

EINFLUSS VON O-(β -HYDROXYETHYL)-RUTOSIDEN AUF
PERMEABILITÄT UND REAKTIVITÄT VON BLUTGEFÄSSEN
IN VIVO UND IN VITRO

GERHARD GRIMM

Disbui, München

1987



Aus dem Walther-Straub-Institut für Pharmakologie
und Toxikologie der Medizinischen Fakultät der
Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Forth

Arbeit angefertigt unter der Leitung von
Prof. Dr. Wolfgang Felix

vorgelegt über
Prof. Dr. A. Petter
Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

EINFLUSS VON O-(β -HYDROXYETHYL)-RUTOSIDEN AUF
PERMEABILITÄT UND REAKTIVITÄT VON BLUTGEFÄßEN
IN VIVO UND IN VITRO

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Gerhard Grimm
aus Ansbach

München 1987

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

Referent: Prof. Dr. A. Petter

Korreferent: Prof. Dr. M. Merckenschlager

Tag der Promotion: 24. Juli 1987

Meinen Eltern
in Dankbarkeit
für die Zukunft
meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. EINLEITUNG	4
II. SCHRIFTTUM	8
1. O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside (= HRutoside)	8
1.1. Chemie der HRutoside	8
1.2. Zur Pharmakokinetik von HRutosiden	10
1.3. Nebenwirkungen und Toxizität von HRutosi- den	14
1.4. Zum Wirkungsmechanismus von HRutosiden ..	15
1.5. Pharmakodynamik von HRutosiden	20
2. Bau, Permeabilität und Reaktivität der Blutgefäße	27
2.1. Aufbau der Gefäßwand	27
2.2. Transkapillärer Stoffaustausch	33
2.3. Ödempathogenese	35
2.4. Regulierung des Gefäßtonus	37
2.5. Rezeptorentheorie der Katecholaminwirkung an den Blutgefäßen	38
3. Alpha-Rezeptoren	41
3.1. Folgereaktionen nach der Erregung von alpha-Rezeptoren	46
4. Endothelabhängigkeit von Gefäßreaktionen	47
III. METHODIK	49
1. Ödemversuche am Hinterlauf der Katze	49
1.1. Diskussion der Methodik	61
2. Versuche an isolierten Meerschweinchen- karotiden	66
2.1. Diskussion der Methodik	70
IV. ERGEBNISSE	72
1. Wirkung von HRutosiden auf das Polidoca- nolödem am Hinterlauf der Katze (in vivo Versuche)	72
1.1. Kontrollversuche	72

	Seite
1.2. Ödemprotektive Wirksamkeit von HRutosi- den bei peroraler Applikation	76
1.3. Blutdruck, Perfusionsdruck	88
2. Wirkung von HRutosiden an isolierten Meer- schweinchenkarotiden (in vitro Versuche)	90
2.1. Kontrollversuche	91
2.2. Verumversuche	91
3. Versuche zur Reaktivität der Karotisab- schnitte	106
3.1. Vergleich der Gefäßreaktionen zwischen intra- und extravasaler Applikation von Noradrenalin	106
3.2. Einfluß der Gefäßschädigung auf das Ver- hältnis zwischen intravasaler und extra- vasaler Reaktion von Noradrenalin	112
3.3. Regeneration der Gefäßabschnitte nach der Schädigung	113
3.4. Einfluß der HRutoside auf die Gefäßstoni- sierung durch Noradrenalin	120
3.5. Beeinflussung der Gefäßwirkung von Adre- nalin durch den α -Blocker Phentolamin ..	122
V. DISKUSSION	126
1. Gefäßschädigung durch Polidocanol	126
1.1. In vivo Versuche	126
1.2. In vitro Versuche	130
2. Ödemprotektive Wirkung von HRutosiden am Hinterlauf der Katze	131
3. Blutdruck, Perfusionsdruck	134
4. Gefäßschützende Wirkung von HRutosiden an isolierten Meerschweinchenkarotiden	135
5. Zum Wirkungsmechanismus der Hydroxyethyl- rutoside	137
6. Zur Reaktivität der Karotisabschnitte ge- genüber Katecholaminen mit besonderer Be- rücksichtigung der Verteilung von α -Re- zeptoren innerhalb der Gefäßwand	139

	Seite
6.1. Reaktivität gegenüber Katecholaminen	139
6.2. Einfluß einer Endothelschädigung auf die Reaktivität der Karotisabschnitte gegen- über Noradrenalin	142
6.3. Zum Versuch, die lumennahen Rezeptoren mit HRutosiden zu bedecken	144
6.4. Blockade der lumennahen Rezeptoren durch α -Blocker	144
VI. ZUSAMMENFASSUNG/SUMMARY	147
VII. LITERATUR	152

I EINLEITUNG

Die chronisch venöse Insuffizienz ist eine weit verbreitete Zivilisationserkrankung, die in unserem Jahrhundert eine große Bedeutung erlangt hat.

Unter dem Begriff der chronischen Veneninsuffizienz sind Störungen des venösen Abstroms zusammengefaßt, deren pathogene Entstehung durch die Kombination mehrerer Faktoren bedingt ist. So spielen neben konstitutionellen und hereditären Faktoren vor allem auch disponierende Gegebenheiten wie stehende Arbeitsweise, Bewegungsarmut sowie mehrfache Graviditäten eine Rolle (Küster 1983). Pathophysiologische Voraussetzungen für die Entwicklung einer chronischen Veneninsuffizienz sind in erster Linie ein hoher intravasaler Druck, eine angeborene oder erworbene Klappenschwäche sowie eine Wandschwäche der Venen (Thulesius 1984). Thulesius (1984) konnte an isolierten Venenpräparaten von Oberschenkel und Fuß feststellen, daß die Dichte der sympathischen Innervation der Venenwand in peripherer Richtung abnimmt, die Ansprechbarkeit auf vasokonstriktorsche Substanzen und auf Pharmaka, die im Blut zirkulieren, aber zunimmt. In diesem Zusammenhang kann man überlegen, ob diese in der Peripherie zunehmende Affinität gegenüber gefäßaktive Stimuli durch im Endothel lokalisierte Rezeptoren, insbesondere α -Rezeptoren, verursacht wird. Eine Schädigung der Gefäßintima im Rahmen der chronischen Veneninsuffizienz würde dann auch diese Endothelrezeptoren zerstören und somit den Regulationsmechanismus der Gefäßweite hemmen.

Nachfolgende Störungen in der Mikrozirkulation führen zu Kapillarpermeabilitätsstörungen. Einem durch die Abflußbehinderung bei der venösen Insuffizienz entstehenden "hämodynamischen" Ödem liegt als morphologisches Korrelat eine erhöhte Kapillarwandpermeabilität zugrunde, wodurch größere Eiweißmoleküle aus der Blutbahn in das Interstitium übertreten (Dustmann H.O., Godolias G., Enghofer E. 1984).

Als Folge des Ödems entwickeln sich im klinischen Verlauf weitere Gefäß- und Hautveränderungen wie sekundäre Varikose, Zyanose, Stauungsdermatosen, entzündlich-ekzematöse Hautveränderungen bis hin zum Ulcus cruris venosum (Dustmann H.O., Godolias G., Enghofer E. 1984; Rudolfsky G. 1981).

Während die Venopathie bei jüngeren Patienten noch ein vorwiegend kosmetisches Problem ist, kann dieses in der Regel progredient verlaufende Venenleiden bei älteren Menschen eine ganz massive Beeinträchtigung der Lebensqualität bis hin zur Arbeitsunfähigkeit und Invalidität hervorrufen. In der für die Bundesrepublik Deutschland repräsentativen "Tübinger Studie" rechnet H. Fischer (1983) hoch, daß 5,3 Millionen Bundesbürger an einer fortgeschrittenen Veneninsuffizienz und etwa 1 Million an einem Geschwürsleiden der Beine leiden. Nur 14% der über Venenleiden befragten Personen waren frei von jeglichen Venenveränderungen. Etwa 5% der venenkranken Patienten wurden aufgrund ihrer Erkrankung arbeitsunfähig (Böhm C. 1984), verbunden mit einem gesellschaftlichen und finanziellen Abstieg.

Die angeführten Zahlen machen deutlich, daß die venösen Beinleiden nicht nur ein medizinisches Problem darstellen, sondern daß durch dieses Leiden für die Gesellschaft auch erhebliche Kosten entstehen. Die Dringlichkeit einer rechtzeitigen und gezielten Therapie wird vor dem Hintergrund dieser Zahlen offensichtlich, und es erscheint als gerechtfertigt, nach Wegen und Mitteln zu suchen, welche imstande sind, das Leiden und damit auch die sich daraus ergebenden Kosten zu dämpfen.

Für die Behandlung des venösen Beinleidens stehen heute mehrere unterschiedliche Möglichkeiten zur Verfügung. Sie reichen von der Pharmakotherapie, Kompressionstherapie über Sklerosierungs- und Verödungsbehandlung bis hin zu operativen Eingriffen (Wienert V. 1984). Chirurgische Interventionen haben die in sie gesetzten Erwartungen nur teilweise erfüllt (Dustmann H.O., Godolias G., Enghofer E. 1984).



Da bei einem chronischen Leiden wie der chronisch venösen Insuffizienz nicht nur die Anwendung, sondern auch die Einhaltung der therapeutischen Maßnahmen über einen langen Zeitraum äußerst wichtig sind und von Patienten den innerlich und äußerlich anwendbaren Mitteln der Vorzug vor den komprimierenden Maßnahmen gegeben wird (Fischer 1984), steht die Pharmakotherapie heute im Mittelpunkt der Behandlung.

Neben ödemausschwemmenden, venentonisierenden, antiphlogistisch und rheologisch wirkenden Medikamenten werden ödemprotektive Pharmaka bei Venenerkrankungen am häufigsten verordnet (Wienert V. 1984). Diese ödemprotektiven "Venennmittel" umfassen 3 Gruppen: die natürlichen, wie das Aescin, halbsynthetische, wie die Rutoside und vollsynthetische, wie das Benzaron (Schneider W. 1984). Die O-(β -Hydroxyethyl)-Rutoside stellen als halbsynthetisch veränderte pflanzliche Glykoside eine Substanzgruppe dar, die wesentlicher Bestandteil von Präparaten ist, die sich als sogenannte "Venennmittel" im Handel befinden. Eines dieser "Venennmittel" ist das Venoruton^R, eine standardisierte Mischung aus Mono-, Di-, Tri- und Tetrahydroxyethylrutosiden, die seit langem sowohl oral als auch parenteral eingesetzt werden.

In Tierversuchen konnte an sogenannten Ödemmodellen folgendes gezeigt werden: Gibt man den Tieren vor der Applikation endothelschädigender Substanzen ödemprotektive Pharmaka, so kann der Endothelschaden vermindert oder sogar aufgehoben werden (= sog. ödemprotektiver Effekt). Allerdings müssen die pflanzlichen ödemprotektiven Wirkstoffe in der Regel hoch dosiert verabreicht werden, damit sie die gewünschte Wirkung entfalten (Wienert V. 1984). Felix, Nieberle und Schmidt (1983) konnten im Tierversuch nachweisen, daß bei einmaliger parenteraler Verabreichung von O-(β -Hydroxyethyl)-Rutosiden ab 20mg/kg KG der ödemprotektive Effekt statistisch signifikant wird. Unterstellt man bei peroraler Applikation eine 10%-ige Absorptionsquote, so müßten immerhin 200mg/kg KG oral gegeben werden, woraus sich für den erwachsenen Menschen eine Einzeldosis von ca. 14g errechnet.

Ein Vergleich der O-(β -Hydroxyethyl)-Rutosid-Wirkung bei intravenöser und peroraler Applikation ergab jedoch interessante Ergebnisse. Während eine einmalige intravenöse Applikation von 20mg/kg KG nur schwach ödemprotektiv wirkte, war bei 200mg/kg, einmal oral gegeben, ein statistisch signifikanter Effekt vorhanden. Ebensogut ödemprotektiv wirkte erstaunlicherweise auch eine niedrige peroral verabreichte Dosis von 20mg/kg KG, wenn diese über 4 Tage verabreicht wurde (Felix W., Nieberle J., Schmidt G. 1983).

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, ob durch die Verabreichung noch geringerer Mengen an O-(β -Hydroxyethyl)-Rutosiden über einen längeren Zeitraum ein ödemprotektiver Effekt erreicht werden kann. Hierzu wurden bei in vivo Versuchen Katzen über einen Zeitraum von 14 Tagen mit verschiedenen Dosierungen der Rutoside vorgefüttert und danach der protektive Effekt gegenüber der schädigenden Wirkung von Polidocanol am Gefäßendothel des Hinterlaufes der narkotisierten Katzen untersucht.

Parallel dazu wurde im Organbad die Schutzwirkung der O-(β -Hydroxyethyl)-Rutoside gegenüber isolierten Gefäßabschnitten getestet. Bei diesen in vitro Versuchen wurden Karotisabschnitte von Meerschweinchen so in einem Organbad fixiert, daß sie von verschiedenen Substanzen perfundiert und der Einfluß dieser Substanzen auf die Kontraktilität der Gefäße gemessen werden konnte.

Aufgrund dieser Versuchsanordnung war es auch möglich, Untersuchungen über die mögliche Existenz von α -Rezeptoren auf dem Gefäßendothel anzustellen. Eine Schädigung der Gefäßintima müßte gleichzeitig diese Endothelrezeptoren zerstören. Ein wesentlicher gefäßschützender Effekt der O-(β -Hydroxyethyl)-Rutoside beruht nach Hammersen (1983) auf der Bildung einer Art "Schutzfilm" auf der Innenauskleidung der Blutgefäße. Wäre dies der Fall, müßte durch die Hydroxyethylrutoside nicht nur ein Einfluß auf die Permeabilität, sondern über den gleichzeitigen Schutz der Endothelrezeptoren auch eine positive Wirkung auf die Reaktivität der Blutgefäße zu erwarten sein.

II. SCHRIFTTUM

1. O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside (= HRutoside)

1.1. Chemie der HRutoside

Flavonoide stellen neben Chlorophyll und Carotinoiden die am meisten verbreiteten pflanzlichen Farbstoffe dar (Lutomski, Szpunar, 1972). Schon vor mehr als 150 Jahren wurden sie in der Farbstoffindustrie zum Färben von Wolle, Seide und Baumwolle herangezogen (Schauenberg, Paris, 1975).

In der Volksmedizin Asiens und Europas wurden Flavonoid-drogen seit Jahrhunderten verwendet. Den Anstoß zum Einsatz der Flavonoide in der modernen Therapie gab der ungarische Nobelpreisträger Szent-Györgyi vor fast 50 Jahren durch den Wirkungsnachweis von Flavonen auf die Gefäß-permeabilität (Voelter, Jung, 1983). Er schrieb ihnen Vitamincharakter zu (Permeabilitäts-Vitamin). Das "Joint Committee on Biochemical Nomenclature of the American Society of Biological Chemists and of the American Institute of Nutrition" hat jedoch im Jahre 1950 den Namen "Vitamin P" abgelehnt und statt dessen für die ganze Gruppe den Namen "Bioflavonoide" angenommen (Lutomski, Szpunar, 1972).

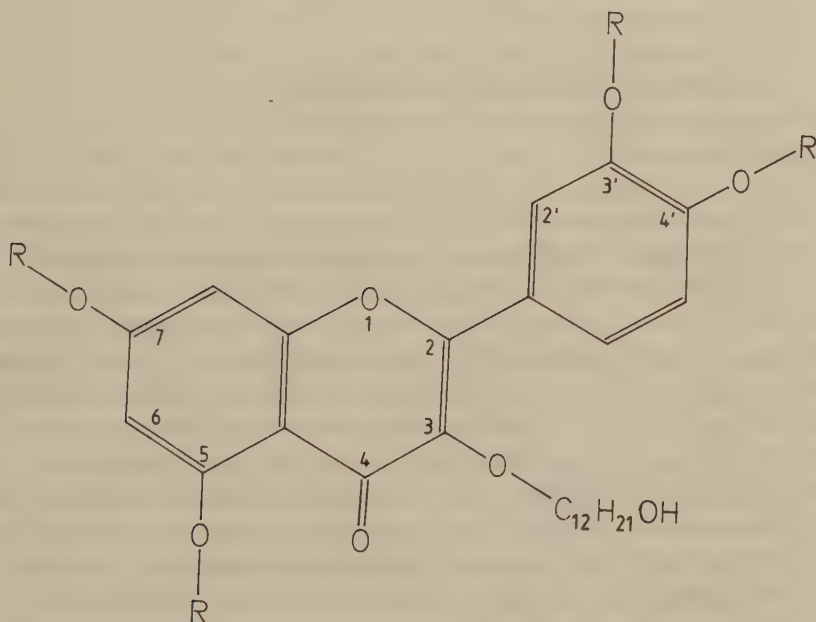
Vor etwa 20 Jahren schafften halbsynthetische Abkömmlinge des Flavonoids Rutin, die wasserlöslichen Rutoside, die Basis für ein gut verträgliches Pharmakon ohne Nebenwirkungen (Voelter, Jung 1983), dessen Haupteinsatzgebiet bis heute in der Behandlung chronischer Venenerkrankungen liegt.

Das Flavonoid-Grundgerüst besteht aus dem Flavon, einem in 2-Stellung durch einen Phenylkern substituierten Benzo- γ -Pyron. Die Vielzahl der natürlich vorkommenden Flavonoide

erklärt sich daraus, daß jedes einzelne Wasserstoffatom vom $C_6-C_3-C_6$ -Grundkern des Flavons durch eine OH-Gruppe substituiert sein kann. Diese OH-Gruppen wiederum können glykosidische oder ätherartige Bindungen eingehen.

Eines dieser Flavonoide ist das Quercetin. Es besitzt Hydroxygruppen in den Stellungen 3,5,7,3' und 4'.

Rutin ist die Substanz aus dieser Stoffgruppe, welche in der Medizin die größte Bedeutung erlangt hat. Man erhält es durch eine glykosidische Bindung von Rutinose (= Rhamnose + Glucose) am C-3-Atom des Quercetins. Be- handelt man Rutin mit Ethylenoxid, entstehen sogenannte β -Hydroxyethylverbindungen, wobei eine bis zu allen vier phenolischen Hydroxylgruppen des Rutins mit Ethylenoxid substituiert sein können (Schmidt, 1978).



Chemische Grundformel der O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside

$R = -CH_2-CH_2-OH$ oder H

Bei den von der Fa. Zyma hergestellten O-(β -Hydroxyethyl)-rutosiden (Venoruton^R) handelt es sich um eine standardisierte Mischung hydroxyethylierter Rutoside, die sich nach gaschromatographischer Untersuchung von Balant (1983) wie folgt zusammensetzt:

7,3',4'	-Trihydroxyethylrutosid	50,1 %
7,4'	-Dihydroxyethylrutosid	21,9 %
7,3'	-Dihydroxyethylrutosid	11,7 %
3'	-Monohydroxyethylrutosid	7,3 %
5,7,3',4'	-Tetrahydroxyethylrutosid	5,1 %
3,7,3',4'	-Tetrahydroxyethylquercitin	3,4 %
Rutin		0,5 %

Es handelt sich beim Venoruton^R um ein sehr gut wasserlösliches, geschmackloses Gemisch mit einem durchschnittlichen Molekulargewicht von etwa 750.

1.2. Zur Pharmakokinetik von HRutosiden

Orale Applikation

Obwohl die Hydroxyethylrutoside aufgrund ihrer hohen Wasserlöslichkeit und einem durchschnittlichen Molekulargewicht von 750 eine enterale Resorption kaum erwarten lassen, konnte sowohl bei verschiedenen Versuchstierarten (Barrow, Griffiths, 1974a; Förster, 1978; Griffiths, Barrow, 1972; Mikrovitsch et al. 1973) als auch beim Menschen (Förster, 1978; Hackett et al. 1976; Jung, Ottnand, Voelter, 1977) eine verhältnismäßig gute Aufnahme aus dem Darmlumen nachgewiesen werden. Allerdings nimmt mit steigendem Grad der Hydroxyethylierung der Rutoside das Ausmaß der Resorption ab. Tetra-HRutosid wird nur noch in geringem Maße aus dem Darmlumen resorbiert.

Griffiths und Barrow (1972) verabreichten an Ratten eine einmalige orale Dosis von ¹⁴C-markierten HRutosiden und bestimmten die über Gallenflüssigkeit und Harn innerhalb von

48 Stunden ausgeschiedenen Mengen. Von den Tetra-HRutosiden waren es insgesamt 2,8 %, bei Tri-HRutosiden 12,4 % und bei Mono-HRutosiden 19,4 % der aufgenommenen Dosis. Diese Befunde stimmen mit Ergebnissen von Hackett und Griffiths (1977) und Förster (1978) überein. Auch Felix (1980, 1983) vermutet bei peroraler Applikation eine Absorptionsquote von ca. 10 %. Seiner Meinung nach könnte die Absorptionsquote bei niedrigen Dosen jedoch höher sein als bei hohen, wobei er als Ursache hierfür einen aktiven Transportmechanismus mit begrenzter Kapazität zur Diskussion stellt.

Schon 1 Stunde nach oraler Applikation von HRutosiden läßt sich ein signifikanter Serumspegel nachweisen. Blutspiegelmaxima können sowohl beim Menschen als auch beim Versuchstier zwischen der 2. und 10. Stunde gemessen werden (Jung et al., 1977; Hackett et al., 1976; Mikrovitch, 1973). Förster (1978) konnte beim Menschen nach 72 Stunden noch deutlich erhöhte Serumwerte nachweisen. Auch bei Versuchen von Hackett et al. (1976) ließen sich nach einem gleichmäßigen Absinken des Serumspegels bis zur 40. Stunde nach oraler Applikation selbst nach 120 Stunden noch Spuren von HRutosiden im Blut finden. Bei anderen Versuchen waren sowohl beim Menschen als auch bei Hunden nach durchschnittlich 24 Stunden keine HRutoside mehr im Serum nachzuweisen (Jung et al., 1977; Mikrovitch et al., 1973).

In die Blutzellen werden Hydroxyethylrutoside nicht aufgenommen. Knapp 30% der HRutoside im Blut sind an Plasmaproteine gebunden (Hackett et al., 1976).

Nach oraler Applikation wird ein hoher Anteil der HRutoside von der Leber aufgenommen. Auch hier nimmt die Aufnahme durch das Organ mit zunehmender Substitution durch Hydroxyethyl-Gruppen ab (Förster, 1978). Außer einer Glucuronidierung findet in der Leber keine Veränderung der HRutosid-Moleküle statt. Eine Ausnahme bildet das Mono-HRutosid. Von ihm konnten nach der Leberpassage weitere Metaboliten ge-

funden werden, die wahrscheinlich aus einer Ringspaltung des Moleküls resultieren (Förster, 1978). Möglicherweise entstehen diese Metaboliten aber erst durch die Mikroflora im Darm (Barrow, Griffiths, 1974a).

Aus der Leber werden die O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside über die Galle in den Darm ausgeschieden. Diese biliäre Exkretion stellt nach oraler Aufnahme den mit Abstand wichtigsten Ausscheidungsmechanismus dar. Griffiths und Barrow (1972) fanden innerhalb von 48 Stunden 0,4% Tetra-HRutosid, 10,6% Tri-HRutosid und 16,1% Mono-HRutosid einer einmaligen oralen Dosis von HRutosiden in der Gallenflüssigkeit wieder. Dabei konnten sowohl zum Glucuronid konjugierte als auch unveränderte Rutoside nachgewiesen werden. Auch das Ausmaß der Glucuronidierung hängt vom Grad der Hydroxyethylierung ab. Während Tetra-HRutosid fast nur als unverändertes Molekül ausgeschieden wird, nimmt bis zum Mono-HRutosid der Anteil der als Konjugat ausgeschiedenen Rutoside zu (Barrow, Griffiths, 1974a; Förster, 1978). Hackett und Griffiths (1977) konnten nachweisen, daß etwa 10% der so ausgeschiedenen HRutoside einen enterohepatischen Kreislauf durchlaufen. Die restlichen Rutoside werden im Darm zu ihrem Aglykon hydrolysiert und mit dem Kot ausgeschieden (Barrow, Griffiths, 1974a; Hackett, Griffiths, 1977).

Die renale Elimination spielt bei oraler Applikation nur eine untergeordnete Rolle. Der mit dem Harn ausgeschiedene Anteil einer einmaligen oralen Dosis liegt zwischen 3 und 6%. Dabei tauchen im Urin neben den unveränderten HRutosiden auch deren Glucuronide sowie weitere Metabolite von Mono-HRutosid auf (Barrow, Griffiths, 1974a; Griffiths, Barrow, 1972; Hackett et al., 1976). Die renale Eliminationshalbwertszeit liegt zwischen 18 und 26 Stunden (Balant, 1983).

Die Menge an renal ausgeschiedenen HRutosiden änderte sich auch dann nicht wesentlich, wenn nach mehrwöchiger oraler

HRutosid-Behandlung die renale Ausscheidung einer einzelnen oralen Dosis verfolgt wurde (Hackett et al., 1976). Balant (1983) schloß daraus, daß HRutoside den eigenen Stoffwechsel weder durch Enzymhemmung noch durch Enzyminduktion beeinflussen.

Die lange Nachweisbarkeit von HRutosiden im Blut sowie die lange Eliminationszeit über die Nieren könnten ein Hinweis dafür sein, daß die HRutoside zum Teil im Gewebe retiniert und von dort aus allmählich in den allgemeinen Kreislauf freigesetzt werden (Balant, 1983). Inwieweit neben einer Aufnahme durch die Leber und dem enterohepatischen Kreislauf noch weitere Gewebe, wie z.B. Muskulatur und Gefäße, an dieser HRutosid-Retinierung beteiligt sind, ist nach Balant (1983) bisher noch nicht bekannt, doch Felix (1983) konnte zeigen, daß die HRutoside den Kreislauf zum Teil verlassen und an der glatten Gefäß- und Darmmuskulatur einen schützenden Effekt ausüben.

Parenterale Applikation

Im Gegensatz zur oralen Applikation, nach welcher die HRutoside im Blut über längere Zeit, wenn auch in niedriger Konzentration, meßbar sind, verschwinden sie nach parenteraler Verabreichung schnell wieder aus dem Plasma. Einem steilen Anstieg des Serumspiegels mit Maximalwerten bis zur 30. Minute (Reinartz, Wurst, 1980) folgt eine exponentielle Abnahme. Nach 1 bis maximal 4 Stunden ist der Hauptanteil der HRutoside aus dem Serum verschwunden (Hackett, Griffiths, 1977; Jung, Voelter, 1977). Auch nach parenteraler Applikation stellt die biliärenterale Ausscheidung den Hauptweg dar. Aber die renale Exkretion ist im Vergleich zur oralen Medikation stärker. Vor allem Tetra-HRutosid wird vorwiegend als unverändertes Glykosid über die Nieren ausgeschieden (Barrow, Griffiths, 1972, 1974b; Förster, 1978; Hackett, Griffiths, 1977). Innerhalb

von 24 Stunden nach intravenöser Applikation fanden sich bei Rattenversuchen von Griffiths und Barrow (1972) von Tetra-, Tri- und Mono-HRutosiden im Harn 54,7%, 19,5% bzw. 17,3%, in der Gallenflüssigkeit 29,2%, 65,5% bzw. 65,4% wieder.

In der Gallenflüssigkeit von Ratten können genauso wie im Harn neben den unveränderten Rutosiden auch deren Glucuronide gefunden werden (Förster, 1978).

Im Rattenkot erscheinen fast ausschließlich die entsprechenden Aglykone (Hackett, Griffiths, 1977).

Förster (1978) zeigte beim Menschen, daß bei intravenöser Dauerinfusion (über 6 Std.) mit steigender Dosis der Anteil der renal eliminierten HRutoside überproportional zunimmt. Dieses Ergebnis läßt eine perorale Applikation aussichtsreich erscheinen. Der langsame Absorptionsstrom erzeugt nämlich hierbei keine hohen Plasmakonzentrationen, so daß die renale Ausscheidung gering ist. Möglicherweise ist der Übertritt in das Gewebe weniger konzentrationsabhängig als die renale Ausscheidung. Somit würde bei oraler Applikation im Gegensatz zur intravenösen Gabe ein erheblich größerer Anteil in das Gewebe übertreten, während die renale Ausscheidungsquote niedrig wäre (Felix, 1983).

1.3. Nebenwirkungen und Toxizität von HRutosiden

Die Verträglichkeit von HRutosiden ist ausgezeichnet. Un erwünschte Nebenwirkungen wurden seit der Einführung in die Medizin nicht beobachtet. Selbst bei starker Überdosierung treten keine toxischen Effekte auf (Balant, 1983; Hackett, Griffiths, 1977; Lutomski, Szpunar, 1972; Gerlach, 1968; Casley-Smith, 1976; Harms, Kärcher, Klei nert, 1964).

1.4. Zum Wirkungsmechanismus von HRutosiden

Bis heute konnten der Ort und die Art der ödemprotektiven Wirkung der Flavonoide noch nicht eindeutig geklärt werden. Doch fehlt es nicht an Untersuchungen, dem Wirkungsmechanismus auf die Spur zu kommen. Die wichtigsten Resultate daraus sollen im folgenden Abschnitt aufgeführt werden.

Der ödemprotektive Effekt könnte durch eine ganz unspezifische Wirkung ausgeübt werden, wobei sich diese Unspezifität sowohl auf die auslösende Noxe als auch auf die zu schützende Struktur bezieht. So konnte gegenüber Noxen, die ein entzündliches Ödem erzeugen, ebenso wie gegenüber solchen, die ein nichtentzündliches Ödem hervorrufen, eine protektive Wirkung durch Hydroxyethylrutoside nachgewiesen werden. Und diese Schutzwirkung war nicht nur an Blutgefäßen, sondern auch bei glatter Darmmuskulatur von Meerschweinchen vorhanden (Felix et al., 1983). Einen indirekten Effekt über Kreislaufwirkungen schließt Felix (1972) ebenso aus wie eine Förderung des Lymphabflusses, nicht dagegen eine indirekte Wirkung durch Aktivierung oder Inaktivierung einer Substanz im strömenden Blut. Offen bleibt, ob die ödemprotektive Wirkung durch HRutoside selbst oder einem ihrer Metaboliten verursacht wird (Felix et al., 1983).

Neben einer Hemmung der Filtration hindern die Flavonoide vermutlich auch die Wirkung der Substanzen, die bei den verschiedenen Ödemformen für die erhöhte Kapillardurchlässigkeit verantwortlich gemacht werden (Felix, 1970). So können HRutoside die Wirkung von Histamin hemmen (Felix, 1970; Lecomte, Van Cauwenberger, 1974) und schützen auch gegen die permeabilitätssteigernden Effekte von Serotonin, Bradykinin und Prostaglandin E₁ (Gábor, 1972, 1978; Van Cauwenberger, Franchimont, 1967).

Möglicherweise greifen die HRutoside direkt an der ter-

minalen Strombahn an, indem sie das Lumen der Endothelporen verengen oder verschließen (Felix, 1970, 1972), die Bindungen zwischen den Endothelzellen verstärken (Casley-Smith, 1976), die Konsistenz der endothelialen Kittsubstanz konservieren (Hladovec, 1977) oder einen Effekt auf die Basalmembran oder das interstitielle Bindegewebe ausüben (Casley-Smith, 1976).

Auch Hammersen nimmt an, daß die Wirksamkeit von HRutosiden auf einem allgemeinen protektiven Membraneffekt beruht. Anhand verschiedener Ödemmodelle (1978, 1983) überprüfte er elektronenmikroskopisch, ob die schützenden Effekte der HRutoside bei Gefäßschädigungen auch ein strukturelles Äquivalent in der terminalen Strombahn besitzen.

Am entzündlichen Dextran- und Phospholipase-Ödem konnte er zeigen, daß das Auftreten zahlreicher knopfförmiger Zytoplasmavortreibungen des Endothels, die Vermehrung und Vergrößerung intraendothelialer Vesikel und Vakuolen sowie die Bildung von sowohl transzellulären als auch intrazellulärer größerer Lücken (sog. "gaps") durch HRutoside verhindert oder zumindest beträchtlich reduziert wurden. Beim Phospholipase-Ödem wurde zusätzlich noch die Entstehung von Stechapfelformen der Erythrozyten gebremst.

Die Gefäßveränderungen, welche sich beim nichtentzündlichen Etacrynsäureldem zeigten, nämlich zahlreiche Gefäßverschlüsse durch Thrombozytenaggregate, starke Abflachung des Endothels mit Ausbildung tiefer Inaginationen der luminalen Zellmembran sowie das Auftreten zahlreicher lumenwärts gerichteter, blasiger Endothelprotuberanzen, traten nach HRutosiden nur noch in weniger als der Hälfte der Fälle auf.

Diese Befunde sind ein deutlicher Hinweis für eine Bindung der HRutoside an Zellmembranen, an denen sie dann ihre protektive Wirkung ausüben können. Ob dies auch als Ursache für die Abnahme der intravasalen Thrombo-

zytenaggregate gilt, konnte aufgrund der oben beschriebenen Untersuchungen nicht beurteilt werden (Hammersen, 1983).

Golden (1978) gibt einen Überblick über die bisher durchgeführten Untersuchungen zur Wirkung von HRutosiden auf die Thrombozyten- und Erythrozytenaggregation und kommt aufgrund der übereinstimmenden Ergebnisse zu dem Schluß, daß HRutoside in beiden Fällen die Fähigkeit besitzen, eine Aggregatbildung zu hemmen.

Zusätzlich zur Aggregationshemmung von roten Blutkörperchen fand Schmid-Schönbein (1975, 1978) eine Verbesserung der Verformbarkeit der Erythrozyten unter Laktazidose. Somit ist möglicherweise ein protektiver Effekt gegenüber verschlechterte Fließeigenschaften des Blutes unter pathologischen Bedingungen gegeben (Kieswetter et al. 1983; Bächmann, 1983).

Einen ganz anderen Wirkungsmechanismus der Benzo-Pyrone, darunter auch die O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside, beschreibt Casley-Smith (1976). Im Gegensatz zu Hammersen findet er, daß sie die Permeabilität der Blutkapillaren erhöhen. Doch wird dies überkompensiert durch die Fähigkeit der Benzo-Pyrone, Makrophagen zu erhöhter Proteolysetätigkeit zu aktivieren. Dadurch können die bei eiweißreichen Ödemen im Gewebe vermehrt auftretenden Eiweißmakromoleküle in kleinere Fragmente zerlegt werden. Da für diese, im Gegensatz zu den Makromolekülen, ein Konzentrationsgradient in Richtung Blutgefäßlumen wirkt, ein höherer Diffusionskoeffizient besteht, und sie aufgrund ihrer geringeren Größe das Endothel leichter passieren können, kann auf diese Weise das überflüssige Protein abtransportiert werden. Da bei den Zuständen, bei denen eiweißreiche Ödeme entstehen, sich auch vermehrt Makrophagen im Gewebe finden, und die Benzo-Pyrone zum Teil an Plasmaproteine gebunden sind und mit diesen zusammen die Gefäße verlassen, kann somit die klinische Wirkung erklärt

werden. Durch diesen Mechanismus ist nicht nur ein ödemprotektiver Effekt, sondern auch bei schon bestehenden Ödemen - selbst bei dem der Therapie schwer zugänglichen Lymphödem - eine günstige Wirkung zu erwarten.

Eine ebenfalls indirekte antiödematöse Wirkung kann aus der Fähigkeit der Flavonoide resultieren, die Gefäßwirkung der Katecholamine zu verstärken (Wilson, DeEds, 1949; Kroneberg et al., 1961; Crismon et al., 1951; Ambrose, DeEds, 1949), wobei möglicherweise eine Hemmwirkung auf die Katechol-O-Methyltransferase als Ursache in Betracht kommt (Gugler, Dengler, 1973; Kroneberg et al., 1961). Durch diese Verstärkung der Adrenalin- und Noradrenalinwirkung kann es zu einer lokalen Konstriktion der Widerstandsgefäße kommen. Aufgrund dieser kapillardrucksenkenden Wirkung erfolgt einerseits über eine Verminderung des effektiven Filtrationsdruckes eine Resorption von Flüssigkeit in das Gefäßsystem (Remien, Felix, 1974), andererseits kann die Stoffaustauschfläche zwischen Gefäßlumen und umgebenden Gewebe durch Verminderung der Anzahl durchströmter Kapillaren verringert werden (Ambrose, DeEds, 1949; Bohr et al., 1949; Rázgová et al., 1971; Roztocil et al., 1971).

Ein direkter einheitlicher Einfluß von Flavonoiden auf den Gefäßtonus ist noch nicht sicher bewiesen. Je nach Art des Flavonoids, der Tierart oder der Versuchsmethode, wurden sowohl konstriktorische als auch dilatierende Effekte beobachtet (Gabor, 1972; Casley-Smith, 1976).

Ein weiterer Wirkungsort von HRutosiden auf Enzymbasis könnte das Hyaluronsäure/Hyaluronidase-System sein. Wollny (1971) konnte nachweisen, daß HRutoside in vitro eine Depolymerisation der Hyaluronsäure unter dem Einfluß ionisierender Strahlen reduzieren, was einen Dichtungseffekt in der terminalen Strombahn und im Interstitium bewirkt.

Daß Rutoside membrangebundene Enzymsysteme und Zellstandteile schützen können, leitet Fritz-Niggli (1978, 1983) aus ihrer unterschiedlichen Wirkung auf gesunde und maligne Zellen bei der strahleninduzierten Tumorregrression her. Die Bioflavonoide scheinen Störungen im intrazellulären Energiestoffwechsel zu verhindern, indem sie die Permeabilität der Mitochondrienmembranen stabilisieren. Dadurch wird der membrangebundene Energiestoffwechsel in den Mitochondrien geschützt und für die Aufrechterhaltung eines normalen Energie-Pools der Zellen gesorgt, was für die Erholung von - einer Schädigung ausgesetzten - Zellen wichtig ist.

Die in in vitro Versuchen von Ring et al. (1983) bestätigte Wechselwirkung zwischen Flavonoiden und Membranphospholipiden könnte neben dem Energiestoffwechsel in Mitochondrien auch die Aktivität anderer Membransysteme sowie aktive Transportsysteme an Zellmembranen beeinflussen.

Van Caneghem (1972) beschreibt in diesem Zusammenhang einen stabilisierenden Effekt von Rutosiden auf die Membran von Lysosomen.

Möglicherweise wirken die O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside auch über eine Stimulierung der Nebennierenrinde. Denn nach HRutosid-Applikation steigt der Steroid-Plasmaspiegel an. Dieser Effekt findet sich bei adrenalectomierten Tieren nicht (Gabor, 1978). Die Formalin-, Dextran-, Serotonin- und Bradykininödeme an der Rattenpfote werden durch HRutoside ebenfalls nur bei Tieren gehemmt, die noch eine Nebenniere besitzen (Van Cauwenberger, Franchimont, 1967).

1.5. Pharmakodynamik von HRutosiden

Der wesentlichste pharmakologische Effekt der O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside beruht in deren Einfluß auf die Permeabilität der Blutgefäße der Endstrombahn. Daraus ergibt sich auch deren Hauptanwendungsbereich als ödemprotektives Pharmakon auf dem Gebiet der chronischen venösen Insuffizienz.

Doch auch eine günstige Beeinflussung der Fließeigenschaften des Blutes konnte gezeigt werden (Schmid-Schönbein et al., 1975, 1978; Kieswetter et al., 1983; Bächmann, 1983).

Hinsichtlich der Versuche über eine günstige Beeinflussung der Thrombozyten- und Erythrozytenaggregation sei auf die Übersicht bei Golden (1983) verwiesen. Die Schutzwirkung von HRutosiden gegenüber Strahlenschäden wurde anhand verschiedener Versuchsmodelle untersucht (Fritz-Niggli, 1978, 1983; Wurst et al., 1978; Klemm, 1970, 1978; Harms et al., 1964), wobei der protektive Effekt auf das gesunde Gewebe nicht mit einer Schutzwirkung auf das bestrahlte Tumorgewebe einhergeht (Fritz-Niggli, Rao, 1977).

Die gefäßschützende Wirksamkeit von HRutosiden wurde anhand verschiedener Ödemmodelle im Tierversuch sowie in klinischen Studien geprüft und bestätigt.

Tierexperimentelle Untersuchungen

Bei den Tierexperimenten wurden die lokalen Ödeme auf verschiedene Weise erzeugt.

- Ödemerzeugung durch kapillarschädigende bzw. entzündungserzeugende Substanzen

Gabor M. und B. (1978) prüften die Beeinflussbarkeit des Carrageenin-bedingten Rattenpfoten-Ödems mit HRutosiden. Den Versuchstieren wurde intraperitoneal 100mg/kg des

Flavonoids 1, 2 bzw. 4 Tage lang vor der Ödemerzeugung appliziert. Erst die viertägige Behandlung ergab eine statistisch signifikante Ödemhemmung.

Auf ein durch Prostaglandin E₁ hervorgerufenes Rattenpfoten-Ödem wirkten bei viertägiger Behandlung mit täglich 50, 100 bzw. 200mg/kg i.p. nur die beiden höheren Dosen signifikant.

In ähnlicher Weise testeten van Cauwenberger und Franchimont (1967) die antiphlogistische Wirkung einer dreitägigen i.p.-Injektion von 30mg/kg Trihydroxyethylrutosid auf die Formalin-, Dextran-, Histamin-, Serotonin- und Bradykininödeme an der Rattenpfote. Abgesehen vom Histaminödem hemmte das Rutosid die Ödeme signifikant. Allerdings ließ sich dieser ödemprotektive Effekt nach Entfernung der Nebennieren nicht wiederholen.

Subakute entzündliche Reaktionen, hervorgerufen durch einen Fremdkörper unter der Rückenhaut, ließen sich durch HRutoside nicht beeinflussen.

7-Monohydroxyethylrutosid zeigte bei i.p.-Applikation von 30 bzw. 50mg/kg über 3 Tage eine nur kurzdauernde, dosisabhängige ödemprotektive Wirkung gegen das Bradykinin-, Histamin- und Carrageeninödem der Rattenpfote, nicht aber beim Formalin-, Serotonin- und Dextranödem (Lecomte, van Cauwenberger, 1974). Höhere Dosen (50 - 500mg/kg), intravenös verabreicht, setzten Histamin und 5-HT frei. Dies äußerte sich in einer Senkung des arteriellen Blutdruckes und einer Erhöhung der Gefäßpermeabilität.

Auch Hammersen (1978) verwendete das Rattenpfoten-Modell, um den gefäßschützenden Effekt von HRutosid gegenüber den entzündlichen Dextran- und Phospholipase-Ödemen anhand morphologischer Befunde zu zeigen. Sowohl eine einmalige intravenöse Gabe von 100mg/kg eine Stunde vor Auslösung des Ödems als auch eine 7-tägige perorale Behandlung mit täglich 300mg/kg ergaben eine deutliche Hemmung dieser Ödemformen.

- Postischämisches- und venöses Stauungsödem am Rattenschwanz

Ein durch einmalige Ligatur des Rattenschwanzes erzeugtes akutes venöses Stauungsödem konnte durch tägliche i.v.-Applikation von 500mg/kg HRutosid über 3 Tage signifikant gehemmt werden (Nordmann et al., 1978). Ein gleichgutes Ergebnis erzielte die Arbeitsgruppe um Nordmann beim chronisch-venösen Stauungsödem, hervorgerufen durch dreimalige Ödemprovokation innerhalb von 6 Tagen, wenn die Tiere in diesen 6 Tagen täglich mit 1000mg/kg HRutosid intravenös behandelt wurden.

Das am Schwanz der Ratte hervorgerufene postischämische und Stasisödem wurde durch sehr hohe subcutane Gabe von O-(β -Hydroxyethyl)-rutosiden (2 x 500mg/kg) herabgesetzt (Lund et al., 1970), während kleinere Gaben (50mg/kg i.m.) keine Wirkung zeigten (Gloor et al., 1974).

- Ödemerzeugung durch Hitze

Der Einfluß verschiedener parenteral verabreichter Dosen Trihydroxyethylrutosid von 56,13 - 3400 mg/kg/Tag auf ein durch 54°C heißes Wasser hervorgerufenen leichtes Verbrennungsödem wurde von Piller (1977) untersucht. 425 und 850 mg/kg/Tag reduzierten den Umfang des Gliedmaßenödems und die Abschwellungszeit am besten. Die Behandlung begann 2 Stunden vor der Ödemerzeugung und dauerte über 48 Stunden, wobei in diesem Zeitraum alle 2 Stunden ein adäquater Teil der Tagesdosis appliziert wurde.

- Strahleninduziertes Ödem

Bei Schädigung der terminalen Strombahn durch ionisierende Strahlen zeigte Klemm (1978) am Modell der Kaninchenohrkammer, daß HRutoside einen Schutzeffekt auf die Kapillarstrukturen und besonders auf die Kapillarendothelzelle entfalteten.

- In vitro Versuche an isolierten Gefäß- und Darmabschnitten zum Gewebeschutz von HRutosid

An spiraligen Streifen von Pfortader und Aorta der Ratte und Ileumabschnitten des Meerschweinchens in Nährlösung wurde am Nachlassen der Kontraktilität der glatten Muskulatur die Schädigung durch Etacrynsäure bzw. Polidocanol sowie die Schutzwirkung von HRutosiden gegenüber dieser Schädigung überprüft (Felix et al., 1983). In beiden Fällen hemmte die Zugabe von HRutosiden zur Nährlösung die Schädigung signifikant. Allerdings wurde der Effekt nach Überschreiten der "optimalen" Konzentration ($7 \times 10^{-4}M$) wieder schwächer, und im Gegensatz zur intravitalen Applikation von HRutosiden (50mg/kg etwa eine Stunde vor Entnahme der Organe) verankerte sich das Flavonoid bei Gabe über die Nährlösung nicht im Gewebe und war sofort wieder auswaschbar.

- Versuche am Hinterlauf der Katze

Felix (1972, 1978, 1983) prüfte den Einfluß von HRutosiden auf den Flüssigkeitsaustausch in der terminalen Strombahn an der "gesunden" Hinterextremität der Katze und bei Endothelschädigung der Bein Gefäße.

Die Versuche am ungeschädigten Bein (Felix, 1972) zeigten, daß sowohl bei intraarterieller (10 - 86mg/kg) als auch bei intravenöser (50 - 100mg/kg) HRutosid-Applikation der Nettoflüssigkeitsaustausch eine Verschiebung in Richtung Gefäßlumen erfuhr. Bei i.a.-Applikation war mit 30mg/kg vermutlich die maximale Wirkung erreicht.

Um die Wirksamkeit von 50mg/kg HRutosiden i.v. im Akutversuch zu testen, erzeugte Felix (1978) mittels Durchströmung von kapillarschädigenden Polidocanol- und Thiopentalösungen am Hinterlauf der Katze ein "morphologisches Ödem". Wurden die Tiere 20 Minuten vor der Endothelschädigung mit HRutosiden behandelt, wurde die Entstehung sowohl des Polidocanol- als auch des Thiopentalödems gehemmt und zwar in der Haut stärker als in der Muskulatur.

Bei gleichem Versuchsaufbau verglichen Felix et al. (1983) die Wirksamkeit der HRutoside bei intravenöser und peroraler Applikation. Die Endothelschädigung erfolgte hierbei durch Polidoxanol oder Etacrynsäure. 50mg/kg HRutoside 45 Minuten vor der Gefäßschädigung intravenös appliziert, wirkten wieder ödemprotektiv. Versuche mit niedrigeren HRutosid-Dosen ergaben, daß im Akutversuch ab 20mg/kg der ödemprotektive Effekt statistisch signifikant wird.

Bei peroraler Applikation wirkten 200mg/kg, 4 Stunden vor der Ödemerzeugung verabreicht, ebenso statistisch signifikant ödemprotektiv wie 4 Tage lang täglich einmal 20mg/kg im chronischen Versuch.

Hiermit hat Felix gezeigt, daß HRutoside bei chronischer peroraler Applikation stärker wirken als bei akuter intravenöser. Da die Vermutung bestand, daß die in obigen Versuchen verwendete Dosierung von 20mg/kg bei chronischer oraler Verabreichung nicht die optimale Dosis sei, wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit die Versuche am Hinterlauf der Katze mit niedrigerer Dosierung, über einen längeren Zeitraum angewendet, fortgeführt.

Die Frage, inwieweit die Ergebnisse aus Prüfungen pharmakologischer Substanzen am Versuchstier auf den Menschen übertragbar sind, ist bis heute noch offen und wird wohl auch schwer zu beantworten sein. Jedoch weisen eine Vielzahl von klinischen Befunden darauf hin, daß die ödemprotektive Wirkung von HRutosiden nicht nur am Ödemmodell des Tierexperiments, sondern auch am Menschen auftritt.

Klinische Ergebnisse mit O-(β -Hydroxyethyl)-rutosiden

Im Vergleich zum Tierversuch spielen beim Menschen subjektive Kriterien einen Faktor, welcher ein Versuchsergebnis in Zweifel ziehen könnte (z.B. Placeboeffekt). Weiterhin kann man zu Versuchsbeginn nicht vorhersagen, wie sich das Krankheitsbild bei der einzelnen Versuchs-

person ohne Behandlung weiterentwickelt hätte. Ein Vorteil der klinischen Studien liegt darin, daß der zum Ödem führende Gefäßschaden nicht wie bei den Versuchstieren künstlich imitiert werden muß.

- Parenterale HRutosid-Therapie

An insgesamt 32 männlichen Patienten zeigte Bopp (1978) im Akutversuch, daß eine einmalige intravenöse Injektion von 500mg HRutosid (Venoruton^R injectabile) einen positiven Effekt auf die Unterschenkelvolumina unter hydrostatischer Belastung bei Normalpersonen und Kranken mit venösen Abflußstörungen ausübt.

Während einer einmaligen Infusion von 1000mg HRutosid sank sowohl bei Patienten mit chronisch-venöser Insuffizienz als auch bei gesunden Versuchspersonen der kapilläre Filtrationskoeffizient signifikant ab. Veränderungen der Durchblutung oder der Venendehnbarkeit waren nicht zu beobachten (Roztočil et al., 1971).

Ähnliche Ergebnisse sind bei den Untersuchungen von Rázgová et al. (1971) am idiopathischen Beinödem zu finden.

Gerlach (1968) hat an insgesamt 197 Patientinnen mit Venopathien die Injektionsform von HRutosiden unter Berücksichtigung von Kapillarresistenz und -permeabilität untersucht. Er verabreichte 500mg des Medikaments über einen Zeitraum bis zu 45 Tagen sowohl intravenös als auch intramuskulär. Ein objektivierbarer therapeutischer Effekt trat bei beiden Applikationsformen erst nach 7-tägiger Therapie ein.

An den Unterschenkeln von 21 Patienten mit chronisch-venöser Insuffizienz verglichen Roztocil et al. (1977) die Beeinflußbarkeit der kapillären Filtrationsrate (KFR) bei intravenöser und peroraler Applikation. Nach einmaliger venöser Gabe von 500mg setzte die Wirkung sofort ein, nach 120 Minuten waren die Ausgangswerte wieder erreicht. 300 bzw. 900mg peroral verabreicht, senkten die KFR erst

erst nach 85 bzw. 55 Minuten. Allerdings hielt die Wirkung über die gesamte Versuchsdauer von 120 Minuten an. Es bestand ein deutlicher dosisabhängiger Effekt. 300mg eines Retard-Präparates von HRutosiden zeigten erst nach 240 Minuten eine die KFR-senkende Wirkung.

- Perorale HRutosid-Therapie

Im akuten Versuch verabreichten Prerovský et al. (1972) 12 Patienten mit primärer Varikose im gekreuzten Doppelblindversuch 3 Kapseln à 300mg. 45 bis 120 Minuten nach Einnahme der Kapseln war die kapilläre Filtrationsrate signifikant herabgesetzt.

In einer zweiten chronischen Studie an 50 Patienten mit chronisch-venöser Insuffizienz wurden ebenfalls im gekreuzten Doppelblindversuch über 2 Monate täglich 1200mg HRutoside oral verabreicht. Sowohl die Ödembildung als auch die entsprechenden subjektiven Symptome waren nach HRutosid-Behandlung vermindert.

Dieses Ergebnis stimmt mit denen anderer Versuche überein. Bei van Cauwenberger (1972) waren es 3 x 300mg über 4 bzw. 6 Wochen verabreicht, welche ähnlich günstige Ergebnisse erbrachten, Balmer und Limoni (1983) erreichten im placebo-kontrollierten Doppelblindversuch einen signifikanten Rückgang des Beinödems und der Symptome nach 4-wöchiger Behandlung mit 3 x 300mg täglich, und Küster (1983) erzielte diesen Effekt mit einer täglichen Dosierung von 3 x 500mg über 6 Wochen.

Rázgová et al. (1971) behandelten 5 Frauen mit idiopathischem Ödem 30 Tage lang täglich oral mit 3 x 300mg HRutosiden und konnten eine Abnahme des kapillären Filtrationskoeffizienten verzeichnen. Eine einmalige Infusion von 1000mg HRutosiden nach dieser kontinuierlichen oralen Therapie bewirkte einen weiteren Abfall der KFR. Die Reaktionsfähigkeit gegenüber HRutosiden blieb also auch nach einer Langzeitbehandlung bestehen.

2. Bau, Permeabilität und Reaktivität der Blutgefäße

2.1. Aufbau der Gefäßwand

Zu den Aufgaben des in seinem Gefäßsystem zirkulierenden Blutes gehören die Versorgung der Zellen und Gewebe mit den zu ihrem Bestand und ihrer Funktion erforderlichen Betriebsstoffen, der Abtransport von Abbauprodukten zu den Organen der Ausscheidung sowie die Übergabe von Stoffwechselüberschüssen an die Speicherorgane. Weitere Funktionen des Blutes sind die Regulation des Wasser- und Elektrolythaushaltes, des Flüssigkeitsaustausches zwischen Blut und Gewebe und nicht zuletzt die Mithilfe bei der Aufrechterhaltung einer konstanten Körpertemperatur sowie die Abwehr von Fremdstoffen und von Krankheitserregern.

Vorraussetzung für die Erfüllung dieser Aufgaben sind die funktionsgerechte Gesamtkonstruktion des Systems und dessen zweckentsprechender Einbau in den Organismus (Nickel, Schummer, Seiferle 1976).

Arterien und Venen

Abgesehen von den Gefäßen im Bereich der terminalen Strombahn beruht die Schichteneinteilung der Gefäßwand von Arterien und Venen auf einem gemeinsamen Bauplan: 1. Tunica interna (Intima), 2. Tunica media, 3. Tunica externa (Adventitia). Bei den venösen Gefäßen lassen sich diese Schichten nicht so deutlich gegeneinander abgrenzen wie bei den Gefäßen des arteriellen Gefäßbettes.

Die Tunica externa besteht aus einem elastischen Netzwerk, das sich in peripherer Richtung zunehmend auflockert, und einem Scherengitter aus kollagenen Fasern. Bündel längsverlaufender, glatter Muskelzellen stehen mit dem elastischen Gerüst der Adventitia in Zusammenhang und regulieren dessen Spannung. Diese äußerste Gefäßschicht setzt sich ohne scharfe Grenze in das benachbarte Bindegewebe fort und sorgt für den funktionsgerechten Einbau der Gefäße in ihre Umgebung (Bargmann, 1977).

Die Tunica media stellt die in der Regel muskelreiche, mittlere Wandschicht dar. Sie wird bei den arteriellen Gefäßen durch die Membrana elastica externa von der Tunica externa getrennt. Dichtgefügte, spindelförmige, glatte Muskelzellen umgreifen das Gefäßrohr zirkulär oder in spiraligem Verlauf. In der Außenzone der Media treten auch längsverlaufende Muskelzüge auf. Zwischen diesen Muskelzellen liegen von Fall zu Fall wechselnde Mengen elastischer Fasern und Membranen sowie schrägverlaufende dünne Bündelchen von Kollagenfasern. Bei den Arterien unterscheidet man die herznahen Arterien vom elastischen Typ (Aorta, Truncus pulmonalis, Karotiden), die durch ihren Reichtum der Media an elastischen Fasern und Membranen auffallen von den in höherem Maße zu aktiver Kaliberänderung befähigten Arterien vom muskulösen Typ der Kreislaufperipherie.

Auf venöser Seite überwiegen bei den herznahen Venen die kollagenen und elastischen Fasern, während sich die peripheren Venen bei Überwiegen der Muskulatur aktiv in das Kreislaufgeschehen einschalten können. Dies gilt besonders für die Venen der Extremitäten, die einem stärkeren hydrostatischen Druck ausgesetzt sind (Bargmann, 1977; Nickel, Schummer, Seiferle 1976).

Unter der Tunica interna versteht man die den Blutstrom begrenzende Endothelschicht samt einer zarten Bindegewebsunterlagerung. In großen Arterien ist die Endothelschicht zwischen 0,5 und 1,2 μm dick (Robertson, Rosen 1977). Auch sie ist bei den arteriellen Gefäßen wieder deutlich durch eine elastische, netzig gebaute Membran, der Tunica elastica interna, von der Media geschieden.

Das Endothel besteht aus einer einschichtigen Lage von rhombisch-platten Zellen, die mit ihrem Längsdurchmesser im Großen und Ganzen achsenparallel angeordnet sind. Elektronenmikroskopisch nachgewiesene Fortsätze der Endothelzellen kleinerer Arterien treten durch Fenster in der Tunica elastica interna mit den Muskelzellen der Media in Kontakt (= sog. myoendotheliale junctions) (Carlson, Burrows, Johnson 1982).

Zwischen dem Endothel und der Lamina elastica interna findet sich spärliches kollagenes Bindegewebe, die Lamina subendothelialis (Bargmann, 1977; Nickel, Schummer, Seiferle, 1976).

Morphologischer und funktioneller Aufbau der Gefäße der terminalen Strombahn

Präkapilläre Arterien (Arteriolen), Kapillaren und postkapilläre Venen (Venulen) bilden die sog. terminale Strombahn, in der sich der Stoffaustausch zwischen Blut und Gewebe vollzieht.

Als Arteriolen bezeichnet man die kleinsten präkapillären Arterien mit einem Durchmesser von 10 - 30 μ m. Ihre Media besteht aus einer einzigen Lage ringförmig angeordneter glatter Muskelzellen. Die Tunica elastica interna löst sich in ein elastisches Fasernetz auf, um sich dann in das Kapillargrundhäutchen fortzusetzen. Dieser präkapilläre Gefäßabschnitt erfüllt in Bezug auf Steuerung des allgemeinen Blutdruckes, lokaler Durchblutung und der Filtration wichtige Aufgaben (Bargmann, 1977; Gauer, 1972).

Die postkapillären Gefäßen bestehen nur aus Endothel und einer zarten Adventitia, d.h., sie sind frei von Muskelzellen. Mit zunehmender Erweiterung des Gefäßlumens treten dann Muskelzellen zwischen der Basallamina des Endothels und der Adventitia auf. Man spricht nun von Venulen; sie erreichen eine Dicke von 2 - 3 mm (Bargmann, 1977).

Während die Kapillarwand ursprünglich als die einzige Austauschfläche angesehen wurde, hat sich im Laufe der Zeit herausgestellt, daß auch im Bereich der Venulen erhebliche Austauschvorgänge stattfinden (Gauer, 1972). Hauck und Schröer (1969) beobachteten Permeabilitätsunterschiede zwischen arterieller und venöser Kapillarbettseite im Sinne einer Zunahme der Gefäßwanddurchlässigkeit für farbstoffmarkierte Plasmaproteine in Richtung Venule, während das intravasal nur als freier Farbstoff auftretende Aesculin (Mol.-Gew. 367,3) sein Ausscheidungsmaximum auf der arte-

riellen Kapillarseite hatte. Die in Richtung Venule zunehmende Passagemöglichkeit für Proteine ("Gradient of vascular permeability") wird von diesen Autoren als Folge einer Heteroporosität der Gefäßwand interpretiert. Neben den von Pappenheimer, Renkin und Borrero (1951) geforderten Poren mit relativ kleinem Durchmesser (durchschnittlich $60 \text{ \AA}$) sollen vornehmlich die Venulen noch mit einem zweiten Besatz großlumiger Poren (Durchmesser $250 - 500 \text{ \AA}$) ausgestattet sein.

Den größten, für den Stoffaustausch und die Atmung in den Geweben wesentlichsten, Teil des Gefäßsystems bilden die Blutkapillaren. Ihr Durchmesser liegt, von einigen Ausnahmen abgesehen (z.B. Leber, Knochenmark, Hypophyse), zwischen 6 und $30 \text{ \mu m}$ (Nickel, Schummer, Seiferle, 1976). Der Wandaufbau der Kapillaren besteht aus 1. dem Endothel, 2. der Basalmembran und 3. den Perizyten (Rouget-Zellen).

Das Endothel wird aus einem dünnen einschichtigen Plattenepithel gebildet, dessen Zellelemente meistens langgestreckte, rhombische Gestalt besitzen. Ihre ovoiden, langgestreckten Kerne, die das Zentrum der Zelle vorwölben, sind in Längsrichtung der Kapillaren orientiert. Die Oberfläche der Zellen wird oft durch sehr feine Zytoplasmafortsätze vergrößert, die in die Kapillarrichtung vorspringen (Bargmann, 1977). Außer den üblichen Zellorganellen findet man in den Endothelzellen Vesikel und auf der Zelloberfläche zahlreiche Einstülpungen (Frøkjær-Jensen, 1983; Gauer, 1972). Die Filamente im Zytoplasma der Endothelzellen sind möglicherweise kontraktile (Drenckhahn, 1983; Gauer, 1972). An den Zellgrenzen kommt es oft zu falzartiger Verbindung und Überlappung des Zytoplasmas. Der Abstand zwischen den seitlichen Oberflächen der Endothelzellen beträgt $30 - 90 \text{ \AA}$. Die so entstehende Fuge erscheint als schlitzförmige Pore und bildet wahrscheinlich eine direkte Verbindung von innen nach außen. Stellenweise sind Zonulae occludentes vorhanden. Das Endothel mancher Blutkapillaren (z.B. Nieren, Darmzotten, endo-

krine Organe) wird durch winzige, regelmäßig verteilte Fenster (Durchmesser 500 - 1000 Å) im stark verdünnten Zytoplasma unterbrochen. Sie sind in den meisten Fällen durch ein Diaphragma von der Dicke des Plasmalemmes geschlossen. Bei den Kapillaren vom kontinuierlichen Typ in Haut und Muskulatur fehlen diese Fenster (Bargmann, 1977; Gauer, 1972).

Das Endothel wird von einer Basallamina (Dicke 400 - 600 Å) umschlossen, die vorwiegend aus Glykoproteiden besteht. Zusammen mit einer Schicht Gitterfasern, die vorwiegend zirkulär verlaufen, bildet sie die Basalmembran (Bargmann, 1977). Die Permeabilitätseigenschaften dieser amorphen Membran sind noch weitgehend unbekannt (Gauer, 1972). In die Wand zahlreicher Blutkapillaren sind Perizyten eingeschlossen, deren verästelte Fortsätze das Kapillarrohr umgreifen. Sie liegen in Kammern, die durch Aufspaltungen der Basallamina gebildet werden und werden als kontraktile Zellen angesehen. Ob sie sich außerdem am Stoffaustausch zwischen Blut und Gewebe beteiligen oder am Aufbau der Basallamina mitwirken, ist nicht bekannt (Bargmann, 1977).

Die Permeabilität der Kapillarwand hängt von dem Verhalten des Endothels, der Beschaffenheit der Basallamina und dem effektiven Filtrationsdruck ab (Bargmann, 1977). Da Gase und andere lipidlösliche Stoffe die Lipidschicht der Zellmembran passieren können, steht ihnen zum Durchtritt durch die Kapillarwand die gesamte Endotheloberfläche zur Verfügung. Wasser und hydrophile Stoffe dagegen können diese Schranke nur auf ganz bestimmten Wegen penetrieren (Pappenheimer, Renkin, Borrero, 1951). Lange Zeit glaubte man, daß die folgenden 3 Wege für den Durchtritt wasserlöslicher Stoffe verantwortlich seien:

1. "Kleine" und "große" Poren mit einem Radius von ca. 40 Å bzw. 200 - 350 Å (Landis, Pappenheimer, 1963). Die "kleinen" Poren erlauben die Passage von Wasser und kleinen, lipid-unlöslichen Molekülen, die "großen" Poren (weniger an Zahl) ermöglichen auch die Passage von größeren Mole-

külen, einschließlich Proteine (Gabbiani, Majno, 1977).

2. Die Interzellularspalten mit einem Durchmesser bis 90 Å (Gauer, 1972; Frøkjaer-Jensen, 1983), die für Wasser und wasserlösliche Substanzen mit einem Durchmesser bis zu 1,7 nm permeabel sein sollen (Hammersten et al., 1983).
3. Vesikulärer Transport (Zytopenmpsis) für Makromoleküle (z.B. Proteine), (Spörri, 1976; Gauer, 1972).

Neue, verfeinere Methoden ergaben, daß diese Permeationswege möglicherweise etwas anders verlaufen. Anstelle des sogenannten vesikulären Transportes wurden 2 neue Vorstellungen entwickelt. So erfolgt der Transport von Makromolekülen wahrscheinlich nicht als Inhalt isolierter, freibeweglicher Bläschen durch die Endothelzelle, sondern

1. durch einen ständigen Prozeß kurzfristiger Vesikelfusionen mit nachfolgender Trennung, wodurch das Molekül von einem zum nächsten Vesikel weitergereicht und dabei seine Konzentration entsprechend verringert wird. Hinzu kommt, daß einige Bläschen stabile und langlebige Fusionen miteinander eingehen und auf diese Weise Kanäle bilden, die die Endothelzellen penetrieren können (Clough, 1983), oder
2. dadurch, daß unbewegliche, starre Invaginationen des luminalen und basalen endothelialen Plasmalemmas zu einem strukturell vorgeformten, jedoch flüchtigen trans-endothelialen Passageweg fusionieren (Frøkjaer-Jensen, 1983).

Im Bereich der Vesikelfusionen können zarte Reste der miteinander verschmelzenden Membranen als sog. Diaphragma erhalten bleiben. Es besteht daher auch nicht die Möglichkeit eines uneingeschränkten Austrittes von Makromolekülen. Damit sind 2 Voraussetzungen gegeben, um als strukturelles Äquivalent für beide Porenarten des Pappenheimer'schen Modells in Betracht zu kommen: die seltenen, tatsächlich durchgehenden, offenen Kanäle würden den "großen",

die von Diaphragmen unterteilten Kanäle den "kleinen" Poren entsprechen. Als weiteres strukturelles Korrelat für die "kleinen" Poren können auch die Zellfugen angesehen werden. Somit sind wahrscheinlich nicht feste, vorgegebene Strukturen für den transkapillären Austausch hydrophiler Moleküle verantwortlich, sondern ein "dynamisches hydrophiles System" (Hammersen et al., 1983).

2.2. Transkapillärer Stoffaustausch

Beim transkapillären Stoffaustausch stehen mit der Diffusion und Filtration zwei passive und mit der Zytotransport ein aktiver Permeationsmechanismus im Vordergrund (Spörri, 1976).

Die Diffusion ist verantwortlich für den Transport gelöster Teilchen. Die treibende Kraft ist der Konzentrationsgradient ($c_1 - c_2$), (Gauer, 1972). Die diffundierende Substanzmenge (M) hängt weiterhin noch von der Größe der Oberfläche der offenen Kapillaren (Diffusionsfläche S) sowie von der Permeabilität der Kapillarmembran gegenüber dem Teilchen (P) ab. Zusammenfassend wird dies durch das Fick'sche Gesetz ausgedrückt (Renkin, 1965):

$$M = PS (c_1 - c_2)$$

Die Diffusion durch die Lipidphase der Kapillarmembran wird von den hydrophoben Eigenschaften und dem Ionisationsgrad der zu diffundierenden Stoffe bestimmt, während die Diffusion durch die wässrige Phase der Membran ("Poren", Interzellularspalten) in besonderem Maße von der Molekülgröße der permeierenden Teilchen beeinflusst wird (Kurz et al., 1977).

Durch Diffusion findet der überwiegende Teil des transkapillären Stoffaustausches statt. Im Gegensatz zur Filtration kommt es hierbei primär nicht zu Flüssigkeitsverschiebungen durch die Kapillarmembran (Spörri, 1976).

Die Filtration bewirkt eine Flüssigkeitsströmung durch die Kapillarmembran. Sie basiert auf unterschiedlichen hydrostatischen und onkotischen Druckdifferenzen zu beiden Seiten der Kapillarmembran. Da die hydrostatischen und onkotischen

Drucke des Kapillarblutes (p_k, π_k) und der Gewebsflüssigkeit (p_{IF}, π_{IF}) entgegengesetzte Richtungen aufweisen, müssen zur Berechnung des effektiven Filtrationsdruckes die Differenzen der hydrostatischen und onkotischen Drucke für die entsprechenden Kapillarstellen eingesetzt werden (Spörri, 1976). Das filtrierte Volumen (V) ergibt sich aus

$$V = K (p_k - \pi_k + \pi_{IF} - p_{IF})$$

wobei K der Filtrationskoeffizient ist. In ihm ist die Permeabilität der Kapillarwand und die Kapillaroberfläche enthalten (Gauer, 1972).

Die Hauptmenge der Flüssigkeit fließt bei der kapillären Filtration nicht durch die Endothelzellen selbst, sondern durch die "Poren" in der Membran und die Lücken zwischen den Endothelzellen. Das kritische Molekulargewicht hinsichtlich der Filtrierbarkeit liegt etwa bei 68000. Plasmaproteine werden also von der Kapillarmembran weitgehend zurückgehalten, und somit ist der onkotische Druck des Blutes wesentlich größer als derjenige der Gewebsflüssigkeit. Diesem kolloidosmotischen Druck steht mit dem hydrostatischen Druck des Kapillarblutes eine gegengerichtete Kraft entgegen. Aufgrund des großen Strömungswiderstandes kommt es zwischen dem arteriellen Anfang und dem venösen Ende der Kapillare zu einer relativ starken Abnahme des hydrostatischen Druckes. Der hydrostatische und onkotische Druck der Gewebsflüssigkeit haben nur geringen Einfluß auf die Filtration.

Unter normalen Verhältnissen findet in den Kapillarnetzen von Muskulatur und Haut im arteriellen Schenkel der Kapillare eine Abgabe, im venösen Schenkel hingegen eine Reabsorption von Wasser statt. Der Inversionspunkt zwischen Filtration und Reabsorption ist gegen das venöse Ende der Kapillare verschoben, es wird also mehr Flüssigkeit aus der Kapillare in das Interstitium abfiltriert als reabsorbiert. Dieser interstitielle Flüssigkeitsüberschuß fließt via Lymphgefäße ab (Spörri, 1976).

Die direkte Messung des hydrostatischen Druckes in den Kapillaren und des interstitiellen Flüssigkeitsdruckes bereitet heute noch Schwierigkeiten, so daß die quantitativen Angaben bei den verschiedenen Autoren gewissen Schwankungen unterliegen. Für den intrakapillären hydrostatischen Druck kann man auf der arteriellen Seite der Kapillare Werte zwischen 30 und 45 mmHg finden, auf der venösen Seite zwischen 10 und 20 mmHg. Der kolloidosmotische Druck verändert sich zwischen arterieller und venöser Seite kaum. Er liegt etwa zwischen 20 und 28 mmHg. Auch der Druck der Gewebsflüssigkeit ändert sich im Verlauf der Kapillare praktisch nicht. Je nach Bestimmungsmethode wurden hierfür Werte von +5 mmHg bis zu -8 mmHg ermittelt.

Insgesamt ergeben sich daraus auf der arteriellen Seite ein "effektiver Filtrationsdruck" von 7 - 15 mmHg, auf der venösen Seite ein "effektiver Resorptionsdruck" von 5 - 15 mmHg (Heidenreich, Fülgraff, 1977; Spörri, 1976; Wienert, 1984; Stimpe, Krück, 1970; Guyton et al., 1971).

Die Zytopenmsis stellt einen aktiven Permeationsmechanismus dar. Durch Abschnürung der Zellwand werden extrazelluläre, gelöste Stoffe in Bläschen eingeschlossen. Diese durchwandern das Zytoplasma der Kapillarendothelzelle und geben ihren Inhalt an der gegenüberliegenden Zellwand wieder frei. Die Transportkapazität dieses Systems ist so klein, daß die Vorgänge nur für die Aufnahme von größeren Molekülen (z.B. Proteine) eine Bedeutung haben (Spörri, 1976; Kurz et al., 1977).

2.3. Ödempathogenese

Abweichungen der im vorigen Abschnitt angeführten Kräfte von der Norm ziehen Störungen nach sich, die mit einer Zunahme der interstitiellen Flüssigkeit (Ödem) einhergehen können.

Die pathogenetischen Mechanismen der Ödementstehung lassen sich in 4 Gruppen einteilen, in die man, von einigen Aus-

nahmen abgesehen, alle möglichen Ödemformen einordnen kann (Sandersleben, von, 1972; Stumpe, Krück, 1970; Pschyrembel, 1982). Zu berücksichtigen ist, daß häufig mehr als eine der Ursachen zusammentreffen können.

1. Ödem infolge Erhöhung des hydrostatischen Druckes (Stauungsödem, hämodynamisches Ödem)

Primär liegt dieser Ödemform eine Drucksteigerung im venösen Kapillarschenkel zugrunde, was einen verminderten Rückfluß von interstitieller Flüssigkeit in die Kapillaren zur Folge hat. Sekundär tritt noch ein hypoxischer Kapillarwandschaden hinzu. Die wichtigsten Ursachen, die zu diesem hämodynamischen Ödem führen, sind venöse Abflußbehinderungen, Erkrankungen des Herzens und Dilatationen der Arteriolen.

2. Ödeme infolge Kapillarwandschädigung mit Permeabilitätssteigerung

Als Folge der erhöhten Permeabilität können selbst größere Eiweißmoleküle die Kapillarmembran passieren; es entsteht das sogenannte "morphologische Ödem" (Felix, 1981). Hierher gehören: das entzündliche Ödem (es zeichnet sich durch großen Eiweißreichtum aus), das toxische Ödem (wenn chemische Noxen, bakterielle Toxine oder auch im Organismus entstandene Stoffwechsel- und Abbauprodukte die Kapillaren schädigen), das allergische Ödem (ihm liegt eine Antigen-Antikörper-Reaktion zugrunde, die über eine Histaminfreisetzung zur erhöhten Gefäßwandpermeabilität führt) und das Ödem bei hormoneller Dysregulation (z.B. Ausfall der Schilddrüsenfunktion, Steroidwirkung bei Cushing).

3. Ödem durch verminderte Eiweißkonzentration des Plasmas

Durch Abnahme des kolloidosmotischen Druckes steigt der effektive Filtrationsdruck an. Neben dem nephrotischen Syndrom kommen schwere Leberinsuffizienz, die exsudative Enteropathie, eine niedrige Eiweißzufuhr, kachektische Zustände und Verbrennungen als Ursache in Frage.

4. Ödem infolge Behinderung des Lymphabflusses

Hier kann man das primäre (A- oder Hypoplasie) vom sekundären Lymphödem (Entzündungen, Filariose, Tumore) unterscheiden.

2.4. Regulierung des Gefäßtonus

Die Muskulatur der Gefäße, insbesondere der kleinen Gefäße, zeigt eine reichliche sympathische Innervation. Die Innervationsdichte ist an den präkapillären Gefäßen bedeutend stärker als an den Venulen und Venen. Die postganglionären, vorwiegend marklosen, sympathischen Nervenfasern verzweigen sich in der Regel zwischen Adventitia und Media zu sehr dünnfaserigen Nervennetzen (Koepchen, 1972). Die aus den Endigungen der marklosen Axone, die reich an Noradrenalin-speichernden Vesikeln sind, abgegebenen Transmitter erreichen die peripheren Muskelzellen der Media durch Diffusion. Die Ausbreitung der Erregung über die gesamte Muskulatur wird durch Kontakte zwischen den Myozyten vermittelt (Bargmann, 1977), wozu an den Kontaktstellen der Gefäßmuskelzellen die Basalmembran bei intakter Plasmamembran eingeschmolzen ist (= "Tight Junctions"), (Gauer, 1972).

Neben den vasokonstriktorischem wirkenden, adrenergen sympathischen Nerven gibt es auch cholinerge, die Blutgefäße der Skelettmuskulatur und vermutlich auch die Herzkranzgefäße erweiternde sympathische Vasodilatoren (Nickel, Schummer, Seiferle, 1976; Spörri, 1976).

Es ist zweifelhaft, ob parasympathische Gefäßnerven als Vasodilatoren wirken. Eine Gefäßdilatation wird vielmehr auf eine Verminderung der Impulsfrequenz der Vasokonstriktoren zurückgeführt. Dilatatorische Innervation existiert nur in einigen Gefäßgebieten (Nickel, Schummer, Seiferle, 1976; Koepchen, 1972).

Nicht nur Nervenimpulse, sondern auch Hormone und Metabolite beeinflussen die Gefäßweite.

Die Stärke der neurogenen Steuerung der Gefäßweite nimmt

von den kleinen Arterien bis zu den Kapillaren ab, während die Ansprechbarkeit auf humorale Reize zunimmt (Gauer, 1972). Zu den gefäßaktiven Hormonen gehören die gefäßerweiternden Wirkstoffe Acetylcholin, Histamin und Bradykinin, sowie das Vasopressin, das Angiotensin II und das Serotonin, die vasokonstriktorisch wirken. Einen Doppelleffekt verursacht Noradrenalin, das zwar die meisten Gefäße konstriktorisch, die Herzkranzgefäße jedoch dilatierend beeinflusst. Ähnliches gilt für Adrenalin, das sowohl alpha- als auch beta-Rezeptoren erregen kann. Der gefäßkonstringierende Effekt über die alpha-Rezeptoren wirkt jedoch wesentlich stärker.

Der größere Sauerstoffbedarf aktivierter Organe wird durch den erhöhten Anfall von gefäßerweiternd wirkenden Stoffwechselprodukten wie CO_2 , Milchsäure, Wasserstoffionen, ATP, ADP und AMP lokalchemisch reguliert (Nickel, Schummer, Seiferle, 1976; Spörri, 1976).

Das Kreislaufzentrum im Bereich der Brücke des Hinterhirnes und des verlängerten Markes sorgt durch Steuerung der Herztätigkeit und des Gefäßtonus für die Aufrechterhaltung eines normalen Blutdruckes. Es steht unter ständigem Einfluß der Pressorezeptoren, die den Blutdruck kontrollieren und der die chemische Zusammensetzung des Blutes registrierenden Chemorezeptoren (Nickel, Schummer, Seiferle, 1976).

2.5. Rezeptorentheorie der Katecholaminwirkung an den Blutgefäßen

Die von J.N. Langley und P. Ehrlich erstmals aufgestellte Rezeptorentheorie geht von der Vorstellung aus, daß eine Substanz nur dann auf zellulärer Ebene wirksam werden kann, wenn irgendein molekularer Reaktionspartner (Rezeptor) vorhanden ist. Dieser Rezeptor muß gewisse spezifische Eigenschaften haben, damit eine bestimmte Substanz mit ihm eine chemische Bindung eingehen kann. Man nimmt heute an, daß Rezeptoren Proteinstrukturen sind, und daß

sowohl der Rezeptor als auch das entsprechende Pharmakonomolekül in gewissem Grade verformbar sind, also nicht unbedingt in einem starren "Schlüssel-Schloß"-Verhältnis zueinander stehen müssen.

Die mit einer chemischen Bindung zwischen Rezeptor und einer bestimmten Substanz verbundene Änderung der lokalen biologischen Eigenschaft am Reaktionsort wird in einen "Reiz" transformiert, welcher schließlich den "Effekt" auslöst (Kuschinzky, Lüllman, 1976; Ariens, Simonis, 1983). Darüber, wie es zur Auslösung eines bestimmten Reizes kommt, existieren zur Zeit zwei Theorien: nach der "Besetzungstheorie" ist die Wirkung eines Pharmakons proportional der Zahl der durch seine Moleküle besetzten Rezeptoren; die "rate-Theorie" besagt, daß die Auslösung eines Effektes von der Zahl der Treffer von Pharmakon und Rezeptor in der Zeiteinheit abhängig ist (Kurz et al., 1977; Kuschinzky, Lüllman, 1976).

Bei der Interaktion von Noradrenalin und Adrenalin mit ihren Rezeptoren müssen zwei Arten von Folgereaktionen unterschieden werden:

1. Unmittelbar eintretende Änderungen der Membranpermeabilitäten am Erfolgsorgan, wie
 - Hyperpolarisation glatter Muskelzellen (relative Zunahme der K-Leitfähigkeit), die über eine Hemmung der elektrischen Aktivität zur Erschlaffung der Muskeln führt;
 - Depolarisation glatter Muskelzellen (relative Zunahme der Na-Leitfähigkeit), damit Steigerung elektrischer Aktivität und Tonuszunahme.
2. Steigerung der Aktivität der membrangebundenen Adenylzyklase, die eine Überführung von intrazellulärem ATP in zyklisches 3',5'-AMP katalysiert, das als intrazelluläre Überträgersubstanz ("second messenger") Funktionsänderungen bestimmter zellulärer Prozesse auslöst (Kuschinzky, Lüllman, 1976).

Für die qualitativ verschiedenen Wirkungen von Noradrenalin und Adrenalin auf die Blutgefäße wird der Angriff an

verschiedenen Rezeptoren verantwortlich gemacht: die Rezeptoren, über die eine Kontraktion der Gefäßmuskulatur ausgelöst wird, werden alpha-Rezeptoren, diejenigen, über die eine Erschlaffung ausgelöst wird, werden beta-Rezeptoren genannt (Grobeck et al., 1977). Die Muskelzellen der Arterien enthalten sowohl alpha- als auch beta-Rezeptoren, die der Venen vorwiegend alpha-Rezeptoren (Spörri, 1976; Felix, 1981).

Das durch Nervenimpulse auf exozytotischem Wege aus den sympathischen Nervenendigungen freigesetzte Noradrenalin verteilt sich ausschließlich durch Diffusion und übt nur eine lokal begrenzte Wirkung aus. Da es praktisch nur mit den alpha-Rezeptoren in der Blutgefäßwand reagiert, ruft es eine reine Vasokonstriktion hervor (Kuschinzky, Lüllman, 1976; Koepchen, 1972). Im Gegensatz dazu verursacht das vom Nebennierenmark sezernierte Adrenalin aufgrund seiner humoralen Verteilung eine systemische Wirkung. Es wirkt sowohl auf alpha- als auch beta-Rezeptoren, wobei die beta-Wirkung eine niedrigere Schwelle besitzt. Infolgedessen wirkt Adrenalin in niedrigen Konzentrationen in der Muskulatur durch Wirkung auf die beta-Rezeptoren dilatatorisch, während bei höheren Dosen die konstriktorische alpha-Wirkung die beta-Dilatation überspielt; die Wirkungsergebnisse ist dann eine Gefäßkonstriktion (Koepchen, 1972).

Diese Wirkungen der Katecholamine können im intakten Organismus durch reflektorische Prozesse überlagert und modifiziert werden (Kuschinzky, Lüllman, 1976).

Nur ein kleiner Teil des freigesetzten Noradrenalins erreicht die entsprechenden Rezeptoren an der Plasmamembran und bleibt dort vorübergehend gebunden. Bis zu 90% des Neurotransmitters werden vom freisetzenden Neuron wieder aufgenommen (neuronal Aufnahme). Intraneurales, nicht vesikulär gespeichertes Noradrenalin wird durch eine Monoaminoxidase (MAO) der Mitochondrien oxidativ desaminiert. Die inaktiven Metabolite diffundieren in die Blutbahn. Ein anderer Teil des Transmitters wird in den Intrazellulärraum der

Effektorzellen aufgenommen und dort oxidativ desaminiert und/oder durch die im Zytosol lokalisierte Catechol-O-Methyltransferase (COMT) O-methyliert. Nur Spuren des freigesetzten Noradrenalins gelangen in die Blutbahn. Die dort zirkulierenden Katecholamine werden entweder durch die sympathischen Nervenendigungen aufgenommen oder durch die COMT bzw. MAO in der Leber inaktiviert.

Das für das Noradrenalin gesagte gilt im Prinzip auch für Adrenalin.

Die Katecholamine werden schließlich in Mandelsäure-Derivate überführt und erscheinen als solche oder in konjugierter Form im Harn (Grobecker et al., 1977; Kuschinsky, Lüllman, 1976; Langner, 1974; Bevan, Su, 1973).

3. Alpha-Rezeptoren

Ahlquist (1948) schlug erstmals eine Einteilung sympathischer Rezeptoren in alpha- und beta-Rezeptoren vor. Später fand man, daß eine alpha-, β_1 - und β_2 -Adreno-Rezeptor-Unterteilung besser mit experimentellen Ergebnissen übereinstimmte (Arnold, 1980). Dieses Konzept wurde über lange Zeit allgemein anerkannt, bis man in letzter Zeit auch bei den alpha-Rezeptoren eine Subklassifizierung vornahm.

Basierend auf der Selektivität von Adrenozeptor-Agonisten und -Antagonisten wurden die alpha-Rezeptoren zuerst in prä- und postsynaptische alpha-Rezeptoren unterteilt (Langner, 1974; Starke, 1981). Langner schlug für die präsynaptischen alpha-Rezeptoren die Bezeichnung α_2 -, für die postsynaptischen α_1 -Rezeptor vor.

In den letzten Jahren wurde eine große Anzahl mehr oder weniger selektiver alpha-Agonisten und -Antagonisten entdeckt. Relativ häufig werden als α_1 -Agonisten Phenylephrin und Methoxamin, als α_2 -Agonisten Clonidin, Xylazin, Guanabenz, M7 und B-HT 920 verwendet. Adrenalin und Noradrenalin sprechen sowohl α_1 - als auch α_2 -Rezeptoren an.

Als α_1 -Antagonist besitzt das Prazosin eine relativ starke Selektivität, Yohimbin und Rauwolszin werden häufig als α_2 -Antagonisten verwendet.

Phentolamin blockiert sowohl α_1 -als auch α_2 -Rezeptoren (Docherty, McGrath, 1980; Langner, Shepperson, 1982).

Alpha-Agonisten bewirken Kontraktionen der glatten Muskelzellen in den Blutgefäßen, dem Uterus, der Milz, der Samenblase, des M. retractor penis (Hund), der Nickhaut der Katze, des M. dilatator pupillae (Mydriasis) und der Sphinkteren im Magen-Darm-Trakt, eine Erschlaffung der intestinalen Längsmuskulatur und erhöhen in der Leber die Glykogenolyse und die Gluconeogenese (Phillips, 1980; Arnold, 1980; Grobecker et al., 1977). Die präsynaptischen α_2 -Rezeptoren sitzen auf der Oberfläche der Plasmamembran von Endigungen sympathischer Nerven und hemmen bei ihrer Erregung die Freisetzung des Neurotransmitters Noradrenalin im Sinne eines negativen Feedbackmechanismus (Langner, 1974; Rand, McCulloch, Story, 1982; 1980; Langner, Shepperson, 1982; McGrath, 1983). Dadurch übt die Transmitter-Konzentration im synaptischen Spalt Einfluß auf die beim nächsten Nervenimpuls freizusetzende Noradrenalinmenge aus.

Ursprünglich glaubte man, daß auf den glatten Gefäßmuskelzellen nur postsynaptische α_1 -Rezeptoren vorhanden seien und machte diese alleine für die Gefäßkonstriktion verantwortlich (Langner, 1974). In letzter Zeit mehren sich jedoch die Befunde darüber, daß auch α_2 -Rezeptoren postsynaptisch auf den Effektorzellen lokalisiert sind (Langner, Shepperson, 1982; Schümann, Lues, 1983; Gerold, Häusler, 1983; Medgett, Langner, 1983; Flavahan et al., 1984).

In diesem Punkt gibt es aber auch kritische Meinungen. Daß bei der Kontraktion glatter Gefäßmuskulatur nach der Applikation von Alpha-Agonisten neben den postsynaptischen α_1 -Rezeptoren noch eine weitere Komponente beteiligt ist, scheint unbestritten zu sein. Doch ob es sich dabei um α_2 -Rezeptoren handelt, ist noch nicht sicher bewiesen (Drew, Whiting, 1979; Docherty, Mc-

Grath, 1980; Starke, 1981; McGrath, 1982; 1983). Der sichere Nachweis der postsynaptischen α_2 -Rezeptoren bereitet zum einen deshalb noch Schwierigkeiten, weil die bisher bekannten α_2 -Antagonisten zu wenig selektiv sind, zum anderen, weil die beiden Subtypen der α -Rezeptoren sowohl zwischen verschiedenen Organen, unterschiedlichen Gefäßabschnitten als auch in einem bestimmten Organ bei verschiedenen Spezies unterschiedlich verteilt sein können (McGrath, 1982; Docherty, McGrath, 1980; Drew, Whiting, 1979; Medgett, Langner, 1983).

Zumindest in vivo scheinen die postsynaptischen α_2 -Rezeptoren sicher nachweisbar zu sein (Docherty, McGrath, 1980; Langner, Shepperson, 1982; Drew, Whiting, 1979; Medgett, Langner, 1983; Gerold, Häusler, 1983). Bei in vitro Versuchen ist dieser Nachweis dagegen bisher nur in der V. saphena von Hund und Kaninchen gelungen (DeMey, Vanhoutte, 1981; Shepperson, Langner, 1981; Schümann, Lues, 1983; Flavahan et al., 1984), nicht jedoch auf der arteriellen Seite des Gefäßbettes. Im Einklang mit diesen Ergebnissen stehen die Befunde von Glusa und Markwardt (1983), daß in der A. femoralis des Menschen der α_1 -Subtyp vorherrscht, während die V. femoralis mehr α_2 - als α_1 -Rezeptoren besitzt. McGrath (1982; 1983) beschreibt, daß unter azidotischen Verhältnissen eine Abnahme der α_1 -Rezeptor-Effekte zugunsten von α_2 -Rezeptor-Effekten stattfindet und sieht darin einen logischen Grund, weshalb postsynaptische α_2 -Rezeptoren vorwiegend in venösen Gefäßen vorkommen.

Aus dem unterschiedlichen Verhalten von α_1 - und α_2 -Antagonisten auf die Wirkung von endogen freigesetztem und exogen verabreichten Katecholaminen auf die Gefäßmuskulatur schließen Langner und Shepperson (1982), McGrath (1982) sowie Ariens und Simonis (1983), daß die postsynaptischen α_1 -Rezeptoren nahe an den Nervenendigungen auf den Muskelzellen konzentriert sind ("intrasynaptisch"), während die postsynaptischen α_2 -Rezeptoren "extrasynaptisch", also

weiter entfernt von den Nervenendigungen lokalisiert sind. Aus dieser unterschiedlichen anatomischen Lokalisation folgern diese Autoren, daß die postsynaptischen α_1 -Rezeptoren vorwiegend Reaktionen auf neuronal freigesetztes Noradrenalin vermitteln, während die postsynaptischen α_2 -Rezeptoren von den im Blut zirkulierenden Katecholaminen erregt werden. Die Tatsache, daß Noradrenalin stärker auf α_1 -Rezeptoren, und Adrenalin mehr auf α_2 -Rezeptoren wirkt, bestärkt diese Hypothese (Ariens, Simonis, 1983; Langner, Shepperson, 1982).

Ein weiterer Unterschied in den beiden Subtypen postsynaptischer α -Rezeptoren liegt in deren unterschiedlichen Empfindlichkeit gegenüber Noradrenalin. Postsynaptische α_2 -Rezeptoren besitzen eine niedrigere Reizschwelle gegenüber dem Neurotransmitter, sie werden also schon von relativ geringen Konzentrationen aktiviert. Bei höheren Konzentrationen werden beide α -Rezeptortypen erregt, wobei dann allerdings der Effekt der α_1 -Rezeptoren dominiert (Flavahan et al., 1984; Medgett, Langner, 1983).

Die bevorzugte Ansprechbarkeit von postsynaptischen α_2 -Rezeptoren durch im Blut zirkulierende Katecholamine, deren niedrigere Reizschwelle gegenüber Neurotransmitter sowie die Diskrepanz des Nachweises zwischen in vivo und in vitro Versuchen könnten ein Hinweis dafür sein, daß postsynaptische α_2 -Rezeptoren vorwiegend in für in vitro Versuche schwer zugänglichen arteriellen Widerstandsgefäßen lokalisiert sind (Gerold, Häusler, 1983; Medgett, Langner, 1983; Langner, Shepperson, 1982; Osswald, Guimaraes, 1983).

Auch im zeitlichen Ablauf unterscheiden sich die Reaktionen der α_1 - und α_2 -Rezeptoren. Die schnelle, zuerst einsetzende Gefäßreaktion auf α -Agonisten wird durch α_1 -Rezeptoren vermittelt, während eine langsamere, aber länger andauernde Phase auch die α_2 -Komponente enthält (McGrath, 1983).

Anhand verschiedener Modelle über die anatomische Lokali-

sation von postsynaptischen α_1 - und α_2 -Rezeptoren innerhalb der Blutgefäßwand versucht McGrath (1982) eine Erklärung für die unterschiedliche Wirkungsweise von neuronal freigesetzten und im Blut zirkulierenden Katecholaminen zu finden:

1. Die α -Rezeptoren sind in der gesamten Gefäßwand gleichmäßig verteilt, aber die Rezeptor-Kontraktionskoppelung unterscheidet sich zwischen den beiden Subtypen so, daß neuronal freigesetztes Noradrenalin effektiver auf α_1 - als auf α_2 -Rezeptoren wirkt.
2. Innervierte Gefäße enthalten nur α_1 -Rezeptoren, nicht innervierte Gefäße nur α_2 -Rezeptoren.
3. Postsynaptische α_1 -Rezeptoren sind vorwiegend an der Grenze zwischen Adventitia und Media lokalisiert, liegen also relativ näher bei den noradrenergen Nervenendigungen als die postsynaptischen α_2 -Rezeptoren, welche diffuser über die gesamte Gefäßwand verteilt sind oder sich auf den inneren Lagen der Gefäßwand konzentrieren.

Die letztgenannte Theorie wird auch von Langner und Shepperson (1982) unterstützt.

Ljung et al. (1973) vermuteten, daß in der Pfortader der Ratte die α -Rezeptoren nur auf den Zelloberflächen in der Nähe adrenerger Nervenendigungen lokalisiert sind. Das schnelle Auftreten von Gefäßreaktionen nach intraarterieller Injektion von α -Agonisten zeigt jedoch an, daß α -Rezeptoren auch nahe der Endothelschicht lokalisiert sein müssen (Patil, Ruffolo, 1980).

Es gibt sogar schon Hinweise dafür, daß sich α -Rezeptoren direkt auf den Endothelzellen befinden. Einen ersten indirekten Hinweis für die Anwesenheit von Adrenorezeptoren in Endothelzellen war die Entdeckung von Burri und Weibel (1981), daß Adrenalin die Fähigkeit besitzt, "Weibel-Palade-Bodies" (Organellen des Golgi-Apparates, welche nur im Endothel vorkommen) in das Gefäßlumen freizusetzen. Bevan und Duckles (1975) zeigten in ihren Experimenten, daß, wenn man Glaskügelchen, an die Noradrenalin

kovalent gebunden ist, auf die intimale Oberfläche von Aortastreifen des Kaninchens legt, das Gefäßstück deutlich kontrahiert. Nach chemischer Endothelschädigung war diese Reaktion des Aortastreifens deutlich reduziert.

Nach intimaler Applikation von Noradrenalin erfolgte die Kontraktion von Aortastreifen des Kaninchens sowohl vor als auch nach mechanischer Entfernung der Adventitia oder Blockade neuronaler Aufnahme nach einer kürzeren Latenzzeit und mit schnellerer Anstiegsgeschwindigkeit als nach Applikation über die adventitielle Gefäßseite. Auch diese Ergebnisse stimmen mit der Hypothese überein, daß die Reaktionen über Endothelrezeptoren eingeleitet werden (Pascual, Bevan, 1980).

Studien von Karnuschina et al. (1982) zeigen, daß Endothelzellkulturen aus zerebralen Mikrogefäßen von Ratten eine Adenyl-Zyklase-Aktivität besitzen, welche durch Katecholamine stimuliert werden kann. Durch Anwendung verschiedener alpha-Blocker gelang den Autoren der Nachweis, daß diese Endothelzellen adrenerge Rezeptoren vom α_2 -Typ besitzen.

3.1. Folgereaktionen nach der Erregung von alpha-Rezeptoren

Die biochemischen Folgereaktionen, welche nach einer Erregung der α_1 - und α_2 -Rezeptoren stattfinden, unterscheiden sich bei beiden Rezeptortypen ganz wesentlich.

Eine Aktivierung von α_1 -Rezeptoren führt zu einer Erhöhung der Konzentration freier Kalzium-Ionen im Zytoplasma. Diese kommt zum einen durch den Influx extrazellulärer Kalzium-Ionen über sogenannte "Channels" in der Zellmembran zustande, zum anderen durch Freisetzung von Kalzium-Ionen aus intrazellulären Quellen wie z.B. Sarkoplasmatisches Retikulum, Mitochondrien oder die innere Oberfläche der Plasmamembran (Exton, 1982; Berridge, 1980; Langner, Shepperson, 1982; McGrath, 1983). Während der Freisetzungsmechanismus des intrazellulären Kalziums noch nicht bekannt ist, gibt es über die Art des Einstroms extrazellulärer Kalzium-Ionen schon recht konkrete Vor-

stellungen. Einer Erregung von α_1 -Rezeptoren an der Membranaußenseite folgt sehr wahrscheinlich eine Aktivierung der an der Membraninnenseite lokalisierten Phospholipase C. Dieses Enzym hydrolysiert den ebenfalls an der Membraninnenseite lokalisierten Membranbestandteil Phosphatidylinositol, und diese Hydrolyse wird mit dem Öffnen der Kalzium-"Channels" in Verbindung gebracht (Exton, 1982; Berridge, 1980). Die freien Kalzium-Ionen im Zytoplasma bilden mit dem Ca-bindenden Protein Kalmodulin einen Komplex, der eine Kinase aktiviert, welche wiederum die Phosphorylierung des Myosins der glatten Muskulatur katalysiert. Das phosphorylierte Myosin kann dann mit Aktin reagieren und kontraktile Verbindungen bilden (Rüegg, 1982).

Die Erregung der postsynaptischen α_2 -Rezeptoren zieht eine Abnahme an cyclo-AMP als Folge einer Hemmung der Adenylyl-Zyklase nach sich. Wahrscheinlich wirkt als Transducer zwischen dem Rezeptor und der Adenylyl-Zyklase GTP und ein GTP-bindendes Protein regulierend auf diese Adenylyl-Zyklase ein (Exton, 1982; Berridge, 1980). Neben dieser Hemmung der Adenylyl-Zyklase scheint auch bei der Aktivität von postsynaptischen α_2 -Rezeptoren der Einstrom von extrazellulärem Kalzium eine wichtige Rolle zu spielen (Langner, Shepperson, 1982; Van Meel et al., 1981). Der molekulare Mechanismus der negativen Feedback-Reaktion präsynaptischer α_2 -Rezeptoren auf die Freisetzung von Noradrenalin aus den Nervenendigungen ist bisher noch unbekannt (Exton, 1982).

4. Endothelabhängigkeit von Gefäßreaktionen

Hinweise dafür, daß auf Endothelzellen α -Rezeptoren sitzen könnten, wurden in einem vorhergehenden Kapitel schon aufgezeigt.

Einen ersten direkten Beweis für endothelabhängige Gefäßreaktionen erbrachte Furchgott (1981). Er konnte zeigen, daß Acetylcholin seine dilatierende Gefäßwirkung in Arterien nur bei intaktem Endothel entfaltete. Die Untersuchungen

weiterer Substanzen zeigten, daß das Vorhandensein des Endothels in verschiedenen Blutgefäßen für die dilatierende Wirkung unterschiedlicher Substanzen wie ATP, ADP, Bradykinin, Substanz P, Thrombin, Arachidonsäure, Histamin, 5-Hydroxytryptamin, Hydralazin und das Ca^{++} Ionophor A 23187 unerläßlich ist (Furchgott, 1981; Van de Voorde, Bensen, 1983; Rapoport, Murad, 1983; Spakas et al., 1983; Vanhoutte, Rimele, 1982; Pearson, 1983). Das bedeutet, daß die Vasodilatation nicht durch eine direkte Wirkung der Substanz auf die glatte Muskulatur zustande kommt, sondern daß diese Substanzen mit Endothelrezeptoren reagieren, wodurch die Information weitergeleitet wird (Pearson, 1983).

Vielen dieser dilatierenden Agonisten ist gemeinsam, daß sie die Endothelzellen zur Produktion und Freisetzung einer oder mehrerer Substanzen ("second messenger") veranlassen, welche dann die glatten Gefäßmuskelzellen erschlaffen läßt. Bei diesem "second messenger" handelt es sich vermutlich um ein unstabiles Abbauprodukt der Arachidonsäure (Furchgott, 1981; Van de Voorde, Bensen, 1983), welches entweder über eine Aktivierung der $\text{Na}^{+}\text{-K}^{+}$ ATP-ase (DeMey, Vanhoutte, 1980) oder der Guanlyl-Adenylase (Rapoport, Murad, 1983) eine Erschlaffung der Gefäßmuskulatur bewirkt.

Aber auch für gefäßerregende Reaktionen konnte eine Beteiligung der Endothelzellen aufgezeigt werden. So konnte eine ausgeprägte Verstärkung einer durch Noradrenalin hervorgerufenen Gefäßkonstriktion in Hundearterien durch plötzlich ausgelöste Hypoxie (DeMey, Vanhoutte, 1982) und in Hundeebenen durch Arachidonsäure und Thrombin (DeMey, Vanhoutte, 1982) nur bei intakter Endothelschicht erreicht werden. Der zelluläre Mechanismus, welcher die endothelabhängige Gefäßkonstriktion vermittelt, ist noch nicht bekannt (Vanhoutte, Rimele, 1982).

Somit stellen Endothelzellen, besonders jene aus mikrovaskulären Gefäßen, aufgrund ihrer Wechselwirkungen mit verschiedenen vasoaktiven Mediatoren und mit ihren die Gefäßpermea-

bilität beeinflussenden Eigenschaften den wichtigsten Typ der Zellen dar, welche an der lokalen Regulation des Gefäßtonus und der Permeabilität beteiligt sind (Pearson, 1983).

III. METHODIK

1. Ödemversuche am Hinterlauf der Katze

Die Versuche wurden an 24 Katzen männlichen und weiblichen Geschlechts mit einem Körpergewicht von 1,7 bis 4,7 kg durchgeführt. 18 dieser Tiere wurden 4 bzw. 14 Tage lang peroral mit Dosen von 5 bis 20mg/kg/Tag HRutoside vorbehandelt. 6 dienten als Kontrolle und blieben ohne Medikation. Das HRutosid-Pulver wurde jeweils in etwa 1 ml Wasser gelöst und ins Maul gespritzt.

Für die Narkose wurde den nüchternen Katzen 60mg/kg + 30mg Chloralose, in ca. 5 ml Wasser gelöst, über eine Sonde direkt in den Magen appliziert. Nach etwa 90 Minuten war in der Regel eine ausreichende Narkosetiefe erreicht, die während der gesamten Versuchsdauer anhielt. Bei einigen Tieren wurde noch 0,5 ml Ketanest 1% (= 5mg Ketamin) intramuskulär nachgespritzt, um das Erreichen des Toleranzstadiums zu beschleunigen.

Um ein Auskühlen der Katzen zu verhindern, wurden sie für den Versuch auf einem 37°C warmen Heiztisch in Rückenlage ausgebunden, und über dem Operationstisch sorgte eine Wärmelampe für weitere Wärmezufuhr.

Präparation

In die Trachea wurde nach stumpfer Durchtrennung der langen Zungenbeinmuskeln unterhalb vom Kehlkopf eine Glaskanüle eingebunden, über die mittels eines Thermistors die Atmung registriert werden konnte.

Der rechte Hinterlauf, im folgenden "Ödembein" genannt, da an ihm ein künstliches Ödem erzeugt wurde, mußte vom restlichen Kreislauf der Katze isoliert werden. Hierzu wurden die A. und V. femoralis dextr. an der medialen Gliedmaßen-seite vom Lig. inguinale bis zu der Stelle freipräpariert, an der die Vena saphena medialis in die Vena femoralis dextra mündet. Entlang dieser Gefäßabschnitte wurden dann sowohl bei der Arterie als auch bei der Vene sämtliche Seitenäste abgebunden. Anschließend wurde der parallel zu den Vasa femorales verlaufende N. saphenus sowie auf der lateralen Gliedmaßen-seite zwischen dem Tuber ischiadicum und dem Trochanter major der N. ischiadicus auf einer Länge von ca. 2 cm freipräpariert.

Der gesamte Gliedmaßenquerschnitt mit Ausnahme der Vasa femorales und der freipräparierten Nerven wurde mit zwei sog. Kabelbindern möglichst weit proximal kräftig abgeschnürt. Nach dieser Unterbindung des Kollateralkreislaufes war eine Durchblutung der Extremität nur noch über die freipräparierten Gefäße möglich.

Ein an beiden Enden mit Kanülen versehener PVC-Schlauch wurde zu einem Ring geformt, und ein Ende in proximale, das andere in distale Richtung in die freiliegende A. femoralis eingeschoben und mit einem Faden fixiert. Genauso wie dieser "Arterienring" wurde in die V. femoralis ein "Venening" eingebunden.

Vor dem Einbinden wurden die Schläuche luftblasenfrei mit isotoner Kochsalzlösung gefüllt, welcher 0,5 ml HEPARIN-Natrium BRAUN^R/kg KG/40 ml NaCl ($\hat{=}$ 2 500 I.E. Heparin/kg KG) zur Verhinderung einer Thrombenbildung beigemischt waren.

Eine Rollpumpe wurde so neben der Gliedmaße plaziert, daß sie in beiden PVC-Schlauchringen eine gleichstarke, pulsierende Strömung in jeweils entgegengesetzter Richtung erzeugen konnte.

Somit war gewährleistet, daß über den Arterienring genau-

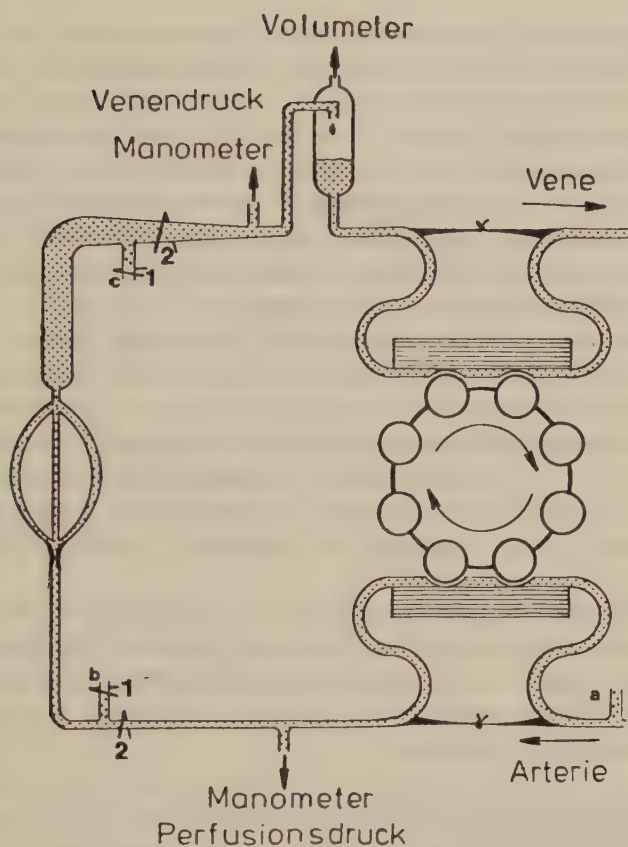


Abb. 1: Schematische Darstellung der Versuchsanordnung bei strömungskonstanter arterio-venöser Perfusion. Versuchsbeschreibung im Text.

- a = Abgang zur Messung des arteriellen Blutdruckes
b, c = Abgänge für die Endothelschädigung
1, 2 = Klemmen: Während der normalen arterio-venösen Perfusion sind die Klemmen 1 geschlossen, die Klemmen 2 geöffnet. Während der Phase der Endothelschädigung sind umgekehrt die Klemmen 1 geöffnet, die Klemmen 2 geschlossen.

soviel Blut in das Bein wie über den Venenring wieder aus dem Bein floß. Dieser Zustand wird als strömungskonstante Perfusion bezeichnet.

Der Arterienring besaß vor sowie nach der Rollenpumpe jeweils einen Abgang. Hier konnte der Blutdruck und der arterielle Perfusionsdruck über Kristallmembranometer gemessen werden. Ein weiterer Abgang kurz vor der distalen Kanüle war für die Endothelschädigung im Rahmen der sogenannten "Beinspülung" vorgesehen.

Das aus dem Bein kommende venöse Blut mußte, bevor es über den Schlauch die Pumpe erreichte, eine Überlaufkammer durchlaufen. Diese war mit einem Volumeter verbunden, der eine Änderung des Blutvolumens in der Kammer registrierte.

Kurz nach der distalen Kanüle befanden sich auch am Venenring ein Abgang für die Beinspülung und ein weiterer, um den venösen Ausflußdruck zu messen (Abb. 1).

Am linken Bein, dem "Kontrollbein", wurde nur die V. femoralis sin. freipräpariert und ein kleinerer PVC-Schlauchring mit einer seitenständigen Hahnkanüle eingebunden, um venöses Blut entnehmen zu können. Dieses Bein blieb also physiologisch durchblutet.

Nach Beendigung der Präparation wurde den Tieren 0,5ml HEPARIN-Natrium BRAUN^R ($\hat{=}$ 2500 I.E. Heparin) i.v. appliziert.

Perfusionstechnik

Durch die oben beschriebene Präparation versorgte die Rollenpumpe das nun vom Kreislauf isolierte Ödembein pro Zeiteinheit mit genausoviel arteriellem Blut, wie sie aus dem Bein wieder abpumpte.

Am Arterienring wurden seitenständig vor der Pumpe der systemische Blutdruck und nach der Pumpe der arterielle

Perfusionsdruck gemessen. Die Geschwindigkeit der Pumpe wurde so eingestellt, daß Blutdruck und Perfusionsdruck möglichst gleich groß waren. Dies war bei einer Förderleistung von 8,3 ml/Min. der Fall.

Der am Venenring gemessene venöse Ausflußdruck konnte durch die Überlaufkammer variiert werden, denn diese konnte in der Höhe verstellt werden, und damit änderte sich auch der hydrostatische Druck, der durch die Flüssigkeitssäule in dem Schlauchstück zwischen V. femoralis und Kammer auf die Venen ausgeübt wurde (Abb. 1).

Systemischer Blutdruck, arterieller Perfusionsdruck, venöser Ausflußdruck, das Volumen der Überlaufkammer sowie die Atmung wurden während der gesamten Versuchsdauer auf einem Mehrkanalschreiber fortlaufend registriert.

Versuchsablauf

Der Versuch verlief während der Gliedmaßenperfusion in einer zeitlich festgelegten Reihenfolge (Abb. 2) und kann insgesamt in 4 Abschnitte gegliedert werden:

1. Perfusion mit Blut

Das Ödembein wurde ca. 45 Minuten lang strömungskonstant mit Blut perfundiert. 5 Minuten nach Perfusionsbeginn wurde am Kontrollbein 3 ml venöses Blut entnommen (= Blutprobe I) und 10 Minuten lang zentrifugiert. 10 Minuten nach der Blutentnahme wurde ebenfalls am Kontrollbein mittels eines Infusors so lange 0,5 ml/Min einer 2%-igen Evans Blue-Lösung infundiert, bis eine Dosis von 50 mg/kg Körpergewicht erreicht war.

Eine zweite Blutentnahme von 2 ml venösem Blut erfolgte 10 Minuten nach Beendigung der Farbstoff-Infusion (= Blutprobe II).

2. Phase der Endothelschädigung (= Beinspülung)

Für die Beinspülung wurde die Perfusionspumpe abgeschaltet. Das Ödembein war somit vollständig vom Kreislauf der Katze

isoliert, die Blutversorgung unterbrochen. Zuerst wurde das Ödembein über die beiden hierfür vorgesehenen Abgänge an den Gefäßringen von Blut freigespült. Dazu wurden etwa 50 ml isotone Kochsalzlösung mit 0,5 atm in den arteriellen Zugang injiziert und über den Ausgang am Anfang des venösen Ringes in einem Becherglas wieder aufgefangen und verworfen.

Anschließend wurde das Bein auf gleichem Wege mittels eines Infusors mit 50 ml einer 0,025%-igen Polidocanol^R-Lösung (Aethoxysklerol^R) durchspült. Dieser Vorgang dauerte etwa 10 Minuten. Diese die Gefäßwände schädigende Substanz wurde schließlich durch 50 ml isotoner Kochsalzlösung auf gleiche Weise wieder aus dem Bein gespült.

Das Volumen der jeweils im Becherglas aufgefangenen Spülflüssigkeiten wurde vor deren Verwerfen notiert.

Die gesamte Beinspülung dauerte etwa 30 Minuten.

3. Perfusion mit Blut

Abschließend wurde das Bein noch genau 45 Minuten lang strömungskonstant mit Blut perfundiert.

4. Entnahme von Gewebeproben

Nach der intravenösen Injektion von ca. 100 ccm Luft zur Tötung des Tieres wurden die Gefäßringe entfernt, und von beiden Gliedmaßen die Haut und die Muskulatur abpräpariert. Die abgelöste Haut beider Beine wurde mit einer Schere jeweils in ca. 1 cm² kleine Stücke zerteilt. Sowohl vom Kontroll- wie auch vom Ödembein wurden davon etwa 3 g in 10 ml rauchender Salzsäure (36%) über Nacht mazeriert sowie 5 g bei 110°C etwa 12 Stunden getrocknet.

Die Muskulatur eines jeden Beines wurde mit einer Mulinette zerkleinert. Hiervon werden wie bei der Haut pro Bein etwa 7 g in Salzsäure aufgelöst und etwa 30 g getrocknet.

Am folgenden Tag wurden Flüssigkeits- und Eiweißgehalt dieser Proben bestimmt.

Vom Plasma jeder Blutprobe wurden 3 x 0,1 ml in 3 Reagenzröhrchen mit 2 ml rauchender Salzsäure versetzt und ebenfalls 12 Stunden stehengelassen.

Außerdem wurde die Gesamteiweißkonzentration des Plasmas der Blutprobe I nach der Biuret-Methode bestimmt.

VERSUCHSABLAUF

		ENDOTHEL- SCHÄDIGUNG			65 min
-50	// -10	0	10	20	
BLUT		NaCl	ÖDEM. SUBST.	NaCl	BLUT
NORMALE		ISOLIERTE			NORMALE PERFUSION

Abb. 2: Schematische Darstellung des zeitlichen Verlaufes der Gliedmaßenperfusion.

Vom Beginn der Endothelschädigung an wurden die Zeiten der einzelnen Abschnitte genau eingehalten.

Auswertung der Meßgrößen

Blutwerte

Aus der Blutprobe I wurde etwas Blut zur Bestimmung des Hämatokrit herangezogen. Hierzu wurde das Blut in Glaskapillaren 5 Minuten lang zentrifugiert.

Vor Versuchsbeginn wurden pH , pCO_2 und pO_2 des arteriellen Blutes mit einem ALV-Gascheck überprüft und, falls nötig, durch intravenöse Injektion von Natriumbicarbonat auf die richtigen Werte eingestellt.

Das Gesamteiweiß im Plasma wurde mit dem Plasma aus der Blutprobe I nach der Biuret-Methode der Fa. Merck (Merckotest^R) bestimmt.

Kreislaufwerte

Der systemische Blutdruck wird als mittlerer Blutdruck nach der Formel $\frac{p_{\text{syst.}} + 2 p_{\text{diast.}}}{3}$ angegeben (Gauer 1972).

Der arterielle Perfusionsdruck wird als mittlerer Druck angegeben.

Das Volumen der Überlaufkammer wurde über einen Volumeter fortlaufend registriert. Änderungen des transkapillären Flüssigkeitsaustausches äußerten sich auf dem Mehrkanalschreiber als ein Steigen oder Fallen der sog. "Ü-Kurve". Diese Volumenänderungen können direkt in ml auf der Originalregistrierung abgelesen werden.

Es wurden die bis zur 30., 40., 55. und 65. Minute in das Bein gefilterte Flüssigkeitsmenge sowie in der 30., 40. und 55. Minute die Filtrationsgeschwindigkeit (ml/Minute) bestimmt.

Das Volumen der Überlaufkammer sank nach der Beinspülung ständig. Um ein Leerlaufen der Kammer zu verhindern, wurde diese nach Bedarf mit isotonischer Kochsalzlösung nachgefüllt.

Die Atemfrequenz wurde mit einem Thermistor nach Felix (1964) registriert. Wenn nötig, wurden die Katzen künstlich beatmet.

Blut-, Perfusions- und venöser Ausflußdruck wurden mit Kristallmembranometern der Fa. S.B. Hansen, Kopenhagen, gemessen.

Die Kreislaufparameter wurden fortlaufend auf einem Mehrkanalschreiber der Fa. Schwarzer, München, registriert.

Flüssigkeits- und Eiweißgehalt der Gewebeproben

Flüssigkeitsgehalt

Das Gewicht der zum Trocknen bestimmten Haut- und Muskelproben wurde vor und nach dem Trocknen bestimmt. Der Wassergehalt der Proben wurde dann nach der Gleichung

$$\frac{C_1 - C_2}{C_2}$$

in ml/g Trockengewebe berechnet.

C_1 : Probengewicht vor Trocknung (g)

C_2 : Probengewicht nach Trocknung (g)

Die Errechnung des reinen Ödemwassers in ml/g Trockengewebe geschah durch Differenzbildung des Wassergehaltes der Proben zwischen Ödembein und Kontrollbein.

Eiweißgehalt

Zur Bestimmung des aus dem Gefäßlumen ins Haut- und Muskelgewebe übergetretenen Eiweißes diente Evans Blue als Indikator. Nach der Methode von Beach und Steinetz (1961) konnte die Menge des in das Gewebe übergetretenen Farbstoffes quantitativ bestimmt werden.

Die in rauchender Salzsäure aufgelösten Gewebeproben (etwa 12 Std. lang) wurden zuerst mit einer 10%-igen Zephirollösung versetzt. Die Proben wurden 10 Minuten stehengelassen, dabei mehrmals kräftig geschüttelt. Hierbei bildete sich ein Komplex aus Zephirol und Evans Blue. Da sich dieser Komplex nur in Chloroform löst, wurde anschließend Chloroform (96%) hinzugefügt, die Probengläser verschlossen, damit kein Chloroform verdampfen konnte, und wiederum unter mehrmaligem Schütteln 10 Minuten stehen gelassen.

Die Chloroformphase wurde schließlich durch zehnminütiges Zentrifugieren von den restlichen Probenbestandteilen getrennt, und die Extinktion in einer verschließbaren Glasküvette mit einem Photometer (Fa. Carl Zeiss) bei 620 nm

gegen reines Chloroform gemessen.

Aus den Plasmaproben wurde der Farbstoff in gleicher Weise extrahiert.

Die Mengenverhältnisse der Salzsäure, des Zephirols und des Chloroforms können aus Tabelle 1 entnommen werden.

Tab. 1 Verwendete Mengen von Salzsäure, Zephirol und Chloroform bei der Bestimmung des Eiweißgehaltes

	Salzsäure	Zephirol	Chloroform
Gewebeproben	10 ml	20 ml	20 ml
Plasmaproben	2 ml	4 ml	4 ml

Die Extinktion von 1 mg Protein in 1 ml Chloroform (= E_0) wurde aus den Plasmaproben nach folgender Formel berechnet:

$$E_0 = \frac{(E_2 - E_1) \times 0,96 \times 4}{G}$$

E_1 = Extinktion des Plasmas vor Evans Blue-Gabe (Blutprobe I)

E_2 = Extinktion des Plasmas nach Evans Blue-Gabe (Blutprobe II)

0,96 = Entspricht der 96%-igen Bindung von Evans Blue an die Plasmaproteine

4 = Die Extraktion erfolgte in 4 ml Chloroform. In 1 ml ist die Extinktion also 4mal so groß

G = Gesamteiweißkonzentration des Plasmas in g/100 ml nach Biuret

Mit Hilfe von E_0 konnte der Proteingehalt der Probenextraktion/ml Chloroform (= P) berechnet werden:

$$P = \frac{E}{E_0} \times 20$$

E = Gemessene Extinktion der Probe

E_0 = Extinktion von 1 mg Protein in 1 ml Chloroform

20 = Verwendete Chloroformmenge

Der Proteingehalt (mg)/g Trockengewicht ergibt sich aus dem Quotienten P/T, wobei sich das Trockengewicht der in die Salzsäure eingewogenen Probe (= T) wie folgt ergibt:

$$T = G_1 \times \frac{C_2}{C_1}$$

- T = Trockengewicht der zu mazerierenden Probe
G₁ = Feuchtgewicht der zu mazerierenden Probe
C₁ = Feuchtgewicht der zur Flüssigkeitsbestimmung eingewogenen Probe
C₂ = Trockengewicht der zur Flüssigkeitsbestimmung eingewogenen Probe

Subtrahiert man den Proteingehalt (mg)/g Trockengewicht des Kontrollbeines von dem des Ödembeines, erhält man die Menge an Ödemprotein (mg)/g Trockengewebe, welche Aufschluß gibt über den Grad der Gefäßschädigung.

Statistische Auswertung

Die Ergebnisse wurden mit Hilfe des t-Testes nach Student auf Signifikanz überprüft. Signifikanz war bei $p < 0,05$ gegeben.

Die in der statistischen Auswertung errechnete Signifikanz wurde in den Tabellen und Abbildungen mit

- + für $p < 0,05$
++ für $p < 0,01$
+++ für $p < 0,001$

angegeben.

Bei den Mittelwerten wurde jeweils der mittlere Fehler des Mittelwertes (Standarderror SE) angegeben.

$$SE = \frac{\text{Standardabweichung}}{\sqrt{N}}$$

N = Anzahl der Einzelwerte

1.1. Diskussion der Methodik

Narkose und Präparation

Als Narkotikum wurde Chloralose gewählt, weil es im Vergleich zu anderen Narkotika eine geringere Wirkung auf den Kreislauf ausübt. Pulsfrequenz und Blutdruck können durch das Narkotikum leicht erhöht sein. Über den Einfluß auf die peripheren Gefäße ist nichts bekannt (Remien, 1974).

Wegen der langen Versuchsdauer wurde das Narkotikum gastral verabreicht. Dadurch wurde im Gegensatz zur parenteralen Applikation eine über die gesamte Versuchsdauer anhaltende gleichmäßige Blutkonzentration gewährleistet. Ein langsamerer Wirkungseintritt mußte dabei allerdings in Kauf genommen werden.

Durch die oben beschriebene Präparationsmethode wurde das Ödembein vom großen Kreislauf isoliert und dadurch in seiner Durchblutung vom Untersucher steuerbar. Diese Isolation war besonders für die Zeit der Beinspülung sowie für die Messung des transkapillären Flüssigkeitsaustausches von großer Wichtigkeit.

Allerdings brachte diese Versuchsanordnung auch gewisse Nachteile mit sich. Durch das Abschnüren der Gliedmaße wurde der Lymphabfluß verhindert. Außerdem mußte das Blut eine relativ große extrakorporale Strecke durchlaufen. Hierbei kann es zu einer Blutabkühlung kommen, die eine Steigerung des arteriellen Perfusionsdruckes und des mittleren Blutdruckes nach sich ziehen kann (Abdel-Sayed, 1970). Zum Teil wird dies dadurch verhindert, daß der gesamte Versuch auf einem beheizten OP-Tisch und unter einer Heizlampe stattfindet.

Da sowohl die Kontrollversuche wie auch die Versuche mit vorbehandelten Katzen von diesen Nachteilen betroffen waren, dürften sie kaum einen Einfluß auf die Ergebnisse ausgeübt haben.

Perfusionstechnik

Durch die strömungskonstante Perfusion wurde stets die gleiche Menge arteriellen Blutes in das Bein gepumpt wie am venösen Ende des perfundierten Gebietes wieder abgepumpt wurde. Dieser Zustand entspricht zwar nicht den physiologischen Verhältnissen, hat aber den Vorteil, daß sich Tonusänderungen im Bereich der arteriellen Gefäße weder auf den Kapillardruck noch auf den Venendruck und damit auf den transkapillären Flüssigkeitsaustausch auswirken. Widerstandsänderungen, ganz gleich in welchem Teil des perfundierten Gefäßbereiches sie stattfanden, äußerten sich in einer Änderung des arteriellen Perfusionsdruckes, und zwar so, daß eine Zunahme des Widerstandes zu einer Erhöhung des Perfusionsdruckes führte, eine Abnahme zu dessen Senkung. Der arterielle Perfusionsdruck war also in dieser Versuchsanordnung ein Maß für den gesamten Widerstand des durchströmten Gebietes.

Um den transkapillären Flüssigkeitsaustausch objektivieren zu können, wurde zwischen dem venösen Ausfluß aus der Extremität in den Venenring und der Rollenpumpe eine in der Höhe verstellbare Überlaufkammer eingeschaltet, deren Volumenänderungen über einen Volumeter gemessen werden konnten. Strömte der Kammer mehr venöses Blut zu als durch die Pumpe in den großen Kreislauf zurückgepumpt wurde, stieg der Flüssigkeitspegel in der Überlaufkammer. Umgekehrt verhielt es sich, wenn der Kammer weniger Flüssigkeit zuströmte, wie auf der arteriellen Seite in das Bein gepumpt wurde. Für solche arterio-venöse Strömungsdifferenzen kamen aufgrund der strömungskonstanten Perfusion 2 Mechanismen in Betracht:

1. Eine Änderung des Venenvolumens übertrug sich auf das Volumen in der Kammer. Kontrahierten sich die Venen, gaben sie vermehrt Blut in die Kammer ab. Venendilatation dagegen senkte das Volumen in der Kammer.
2. Ein Ungleichgewicht im Flüssigkeitsaustausch des perfundierten Gebietes. Hierbei unterscheidet man zwischen Fil-

tration und Resorption. Bei der Filtration dringt ständig Flüssigkeit aus den Blutgefäßen ins Gewebe ein, bei der Resorption strömt umgekehrt Flüssigkeit aus dem Gewebe in die Blutbahn.

Da sich das Venenvolumen zeitlich nicht unbegrenzt verändern kann, ein Ungleichgewicht im Flüssigkeitsaustausch sich in der Regel aber über längere Zeit hinzieht, konnten über den Zeitfaktor Rückschlüsse darauf gezogen werden, um welchen der beiden Mechanismen es sich bei einer Volumenänderung in der Überlaufkammer handelte.

Für die Ödemversuche war es wichtig, Filtration und Resorption vor der Beinspülung in einen Gleichgewichtszustand zu bringen, um nach der Schädigung anhand des Ungleichgewichtes im Flüssigkeitsaustausch den Umfang der erhöhten Kapillarpermeabilität feststellen zu können. Dieses Gleichgewicht würde dadurch erreicht, daß man die Überlaufkammer auf die Höhe einstellte, bei der sich das Volumen nicht mehr änderte, und auf dieser Höhe stehen ließ. Ist dies erreicht, so spricht man vom isogravimetrischen oder isovolumetrischen Zustand.

Durch Höhenverstellung der Überlaufkammer änderte sich gleichzeitig der venöse Ausflußdruck, d.h., mit Erreichen des isogravimetrischen Zustandes war gleichzeitig ein konstanter venöser Ausflußdruck hergestellt. Dieser Gleichgewichtszustand war bei einem Venendruck zwischen 10 und 20 mmHg erreicht. Da sich eine Änderung des venösen Ausflußdruckes zu 100% auf die Kapillaren überträgt (Kjellmer, 1964), war es wichtig, die Höhe der Überlaufkammer für den weiteren Verlauf des Versuches auf gleichem Stand zu belassen.

Phase der Endothelschädigung (Beinspülung)

Durch intraarterielle Applikation des zu 0,025% in isotoner Kochsalzlösung gelösten Sklerotisierungsmittels Polidocanol wurde das Endothel im Ödembein geschädigt, und dadurch die Kapillaren für Wasser und Eiweiß durchlässiger gemacht. Da diese oberflächenaktive Substanz ein makromolekulares System

darstellt, dringt sie praktisch nicht durch die Kapillarschwand (Felix, 1983) und schädigt die Gefäßintima direkt, ohne eine entzündliche Reaktion hervorzurufen. Die dabei auftretenden morphologischen Gefäßveränderungen hat Hammersen (1983) untersucht. Sie entsprechen den im "Schrifttum" schon beschriebenen Veränderungen beim Etacrynsäure-Ödem. Um zu verhindern, daß es beim Zusammentreffen zwischen Blut und Polidocanol zur Thrombenbildung kommt, wurde die Extremität vor der Polidocanolinfusion mit einer isotonen Kochsalzlösung durchspült und zwar mit 0,5 atm, um auch die Kapillaren von Blut zu befreien, welche bei Ruhedurchblutung vom Blutstrom ausgeschlossen sind. Da während der Beinspülung die Perfusionspumpe ausgeschaltet, und das Perfusat außerhalb des Tieres aufgefangen wurde, war gewährleistet, daß keine schädigende Noxe in den restlichen Tierkörper gelangte. Allerdings war das Ödembein während der Zeit der Beinspülung nicht durchblutet. Doch haben vor längerer Zeit durchgeführte Versuche, bei denen anstelle der schädigenden Noxe nur isotone Kochsalzlösung infundiert wurde, gezeigt, daß dies im Vergleich zum Kontrollbein keine Schädigung verursacht (Felix, 1978).

Evans Blue, Gewebeproben

Evans Blue diente als Indikator für den Übertritt von Plasmaproteinen ins Gewebe. Es handelt sich um einen Farbstoff, der sich bei intravenöser Injektion als 2%-ige Lösung (in Aqua bidest.) zu fast 100% an die Plasmaproteine bindet und zwar vorwiegend an die Albumine, nur in geringem Umfang an die Globuline. Da der Farbstoff-Plasmaprotein-Komplex in geringem Maße dissoziieren kann (Dissoziationskonstante 2×10^{-3}), tritt auch eine geringe Menge des freien Farbstoffanteiles in das Gewebe über, um sich dort an Gewebsproteine zu binden. Weiterhin muß berücksichtigt werden, daß unter physiologischen Bedingungen die Kapillarmembran schon in geringem Umfang für Proteine durchlässig ist (Hauck, Appelgreen, 1966). Da dies jedoch im Kontrollbein gleichermaßen

der Fall war, konnte dieser Faktor vernachlässigt werden.

Nach der Gefäßschädigung durch Polidocanol traten vermehrt Plasmaproteine ins Gewebe über, und da an diese Plasmaproteine das Evans Blue gebunden war, diente die Farbstoffkonzentration im Gewebe als Maß für diesen Proteinübertritt.

Aus den am Versuchsende gewonnenen Haut- und Muskelproben wurde nach einem von Beach und Steinetz (1961) beschriebenen Verfahren das Evans Blue extrahiert und durch Vergleich der Farbstoffgehalte in Kontroll- und Ödembein auf die Erhöhung der Kapillarpermeabilität geschlossen.

Weiterhin diente ein Teil der Gewebeproben noch dazu, um, ebenfalls im Vergleich zwischen Kontroll- und Ödembein, den Gehalt an Ödemflüssigkeit im Ödembein zu bestimmen.

Verwendete Geräte

Perfusionspumpe Ismatec Instruments, Typ MV-SB 2, Fa. G.

Heinemann, Schwäbisch-Gmünd

Kristallmembranometer der Fa. S.W. Hansen, Kopenhagen
Volumeter (Felix, Remien, Hällfritzsch, 1971)

Mehrkanalschreiber der Fa. Schwarzer, München

Thermistor nach Felix (1964)

Infusionspumpe der Fa. Braun, Melsungen

Photometer der Fa. Carl Zeiss

Hewlett-Packard 97 Calculator

Verwendete Pharmaka

O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside (= HRutoside), Wirkstoff von
Venoruton^R, Zyma

Polidocanol als Aethoxysklerol^R, 0,025%-ige Lösung in isotoner Kochsalzlösung, Fa. Kreussler + Co GmbH,
Wiesbaden-Biebrich

Evans Blue für die Mikroskopie, Fa. Merck, Darmstadt als
2%-ige wässrige Lösung

Biuret-Reagenssatz (Merckotest^R), Fa. Merck, Darmstadt

Chloralose: alpha-D (+)-gluco-Chloralose reinst, Fa. Merck

Heparin HEPARIN-Natrium BRAUN 25000 I.E./5ml^R, Fa. B.Braun,
Melsungen

Ketanest^R (10mg Ketamin-Base pro ml) Fa. Parke, Davis & Comp.
München

2. Versuche an isolierten Meerschweinchenkarotiden

Für die in vitro Versuche wurden Aa. carotides communes verwendet. Sie entstammten männlichen Meerschweinchen mit einem Gewicht zwischen 400 und 500 Gramm.

Zur Narkose erhielten die Tiere 4 mg/100 g Körpergewicht Pentobarbital (Nembutal^R) (= 0,2 ml/100 g KG einer 2%-igen Lösung in isotoner Kochsalzlösung) intraperitoneal verabreicht. Nach etwa 15 Minuten war eine ausreichende Narkosetiefe für die Präparation erreicht.

Präparation

Den auf einer beheizten Platte in Rückenlage ausgebundenen Tieren wurden nach einem Hautschnitt in der Medianlinie der ventralen Halsseite die A. carotis dextra und sinistra stumpf auf einer Länge von etwa 3 cm freipräpariert. Am kranialen und kaudalen Ende der freipräparierten Arterienstücke wurden diese mit einem Seidenfaden abgebunden. Das so vom Kreislauf isolierte Gefäßstück wurde an jedem Ende knapp vor der Ligatur durch einen vorsichtigen Scherenschlag eröffnet, in jede dieser Öffnungen eine kurze Kanüle, 0,9 mm Außendurchmesser, eingeschoben und mit einem Faden fixiert.

Abschließend wurden die kanülierten Karotiden aus dem Tier herausgeschnitten, und deren Lumen mit etwas Heparinlösung (HEPARIN-Natrium BRAUN^R) durchgespült, um die Blutreste aus dem Gefäß zu entfernen.

Die isolierten Gefäßabschnitte wurden an einem Rohrsystem so fixiert, daß ihre Länge etwa genau so groß war wie in situ, und daß sie von beiden Enden her mit einer Spülflüssigkeit durchspült werden konnten. In diesem Zustand wurden sie in ein auf 37° C beheiztes Organbad gehängt. Dieses nach oben offene Organbad faßte 22 ml und konnte über einen Zu- und Ablauf mit Spülflüssigkeit durchspült werden (s. Abb. 1).

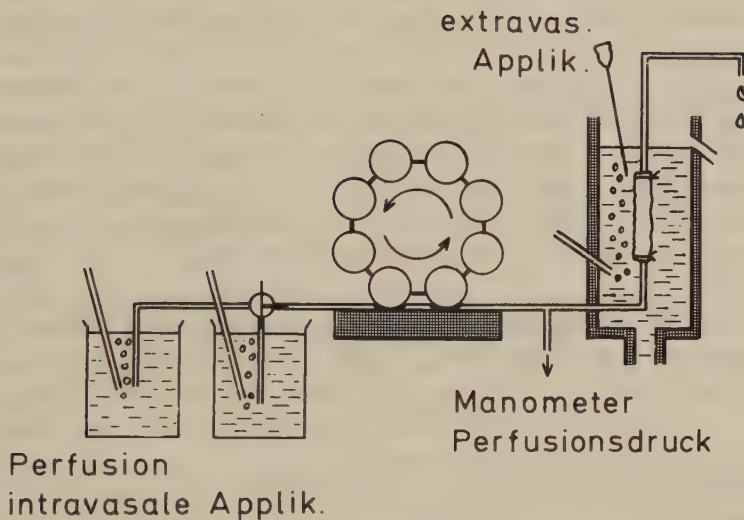


Abb. 3: Schematische Darstellung der Versuchsanordnung zur strömungskonstanten Perfusion isolierter Karotisabschnitte.
Versuchsbeschreibung im Text.

Perfusionstechnik

Für die intravasale Perfusion wurde ein PVC-Schlauch von einem Gefäßende über eine Rollenpumpe in einen die Spülflüssigkeit enthaltenden Behälter geführt. Die Pumpe erzeugte ein konstantes Strömungsvolumen von 2,45ml/Minute. Eine Abzweigung des PVC-Schlauches führte in einen zweiten

Behälter, über den nach entsprechendem Abklemmen der Schläuche Pharmaka in das Gefäßlumen appliziert werden konnten. Ein weiterer Abgang am Schlauch zwischen Perfusionspumpe und Blutgefäß diente zur Messung des Perfusionsdruckes (s. Abb. 3).

Durch diesen Versuchsaufbau waren der intra- und extravasale Raum getrennt, und es bestand die Möglichkeit, die zu untersuchenden Substanzen sowohl intravasal (= iv) als auch extravasal über das Organbad (= ib) zu applizieren. Eine Trennung dieser beiden Flüssigkeitsräume konnte mittels einer Farbstofflösung leicht überprüft werden.

Als Spülflüssigkeit diente Krebs-Ringer-Bicarbonatlösung (Zusammensetzung in mM: NaCl 118,3; KCl 4,7; $MgSO_4$ 1,2; $KHPO_4$ 1,2; $CaCl_2$ 2,5; $NaHCO_3$ 25; Ca-Titriplex 0,026; Glucose 11,1; Pyruvat 0,5) (DeMey, Vanhoutte, 1980). Sie wurde für jeden Versuch neu hergestellt.

Die Flüssigkeit im Organbad wurde ständig mit einem Gemisch von 95% O_2 und 5% CO_2 begast.

Da die Blutgefäße ständig mit einer konstanten Menge Flüssigkeit perfundiert wurden, äußerten sich Änderungen des Gefäßtonus in einer Änderung des Perfusionsdruckes, und zwar bewirkte eine Gefäßkonstriktion eine Erhöhung, eine Gefäßdilatation eine Erniedrigung desselben.

Diese Druckänderungen wurden mittels eines Kristallmembranometers an der oben erwähnten Schlauchabzweigung gemessen und während der gesamten Versuchsdauer auf einem Mehrkanalschreiber fortlaufend registriert.

Versuchsablauf

Zuerst wurden die Gefäße 30 Minuten lang nur mit der Krebslösung perfundiert. Diese Zeit diente den Gefäßen als Eingewöhnungszeit an das in vitro Milieu. Anschließend wurden die für den jeweiligen Versuch verwendeten Substanzen appliziert.

- Gefäßschutz durch O-(β -Hydroxyethyl)-Rutoside

Diese Versuchsreihe lief im Prinzip stets nach dem gleichen Schema ab: die Gefäßintima wurde durch intravasale Polidocanolperfusion (Aethoxysklerol^R) geschädigt. Eine vorherige oder zum Teil gleichzeitige Gabe von HRutosiden sollte diesen Gefäßschaden vermindern. Vor und nach der Gefäßschädigung wurde die Reaktivität der Gefäße durch intra- und extravasale Applikation einer 10^{-5} und 10^{-6} molaren Noradrenalinlösung geprüft. Das Noradrenalin wurde jeweils so lange verabreicht, bis eine für die jeweilige Konzentration maximale Gefäßtonisierung erreicht war und anschließend durch intravasale Infusion oder durch Spülen des Bades mit Krebslösung wieder ausgewaschen. Das Noradrenalin, Polidocanol und die HRutoside wurden in Krebs-Ringer-Bicarbonat-Lösung gelöst.

- Versuche zur Reaktivität der isolierten Gefäßabschnitte

In diesen Versuchen wurden vasoaktive, gefäßschädigende und gefäßschützende Substanzen auf unterschiedliche Art und Weise appliziert und deren Einfluß auf die Reaktivität der Karotisabschnitte geprüft.

Auswertung der Meßdaten

Anhand der über den Mehrkanalschreiber aufgezeichneten Kurven wurden die "Anstiegsgeschwindigkeit" und das "Maximum" der Gefäßkonstriktionen in mmHg ermittelt. Unter Anfangsgeschwindigkeit ist die Zunahme des Perfusionsdruckes in mmHg pro 15 Sekunden in der Anfangsphase der Gefäßreaktion zu verstehen.

Das Maximum ist der Differenzbetrag zwischen dem höchsten Wert des Perfusionsdruckes und dem Ausgangswert (= Ruwert) vor der Gefäßreaktion.

Wie bei den Katzenversuchen wurden die Ergebnisse mit Hilfe des t-Testes nach Student auf Signifikanz geprüft. Signifikanz war bei $p < 0,05$ gegeben.

Die in der statistischen Auswertung errechnete Signifikanz wurde in den Tabellen und Abbildungen mit

- + für $p < 0,05$
- ++ für $p < 0,01$
- +++ für $p < 0,001$ angegeben.

Bei den Mittelwerten wurde jeweils der mittlere Fehler des Mittelwertes (Standarderror SE) angegeben.

2.1. Diskussion der Methodik

Die oben beschriebene Methode der Gefäßperfusion entspricht im Vergleich zu der oft angewandten Verwendung von Gefäßstreifen mehr den physiologischen Gegebenheiten. Das Endothel wird durch die Präparation praktisch nicht verletzt.

Die zu untersuchenden Substanzen können getrennt sowohl intra- als auch extravasal mit dem Blutgefäß in Kontakt gebracht werden.

Da es sich bei der Krebslösung um eine homogene (Newtonsche) Flüssigkeit handelt, sich die Länge der Gefäßabschnitte im Laufe des Versuches nicht verändert und bei den beschriebenen Versuchsbedingungen ein offenes System vorliegt, scheint es berechtigt zu sein, für die Beziehung zwischen Gefäßdurchmesser und dem Perfusionsdruck das Hagen-Poiseillesche Gesetz anzuwenden (Gauer, 1972; Rieger, 1981):

$$\Delta p = J \times \frac{8}{\pi} \times \eta \times \frac{1}{r^4}$$

J = Stromstärke; η = Viskosität der Krebslösung; l = Gefäßlänge; r = Radius des Gefäßlumens; Δp = Änderung des Perfusionsdruckes.

Hieraus ist ersichtlich, daß bei konstanter Stromstärke, Gefäßlänge und Viskosität der Spülflüssigkeit sich eine Änderung des Gefäßlumens in der 4. Potenz auf den Perfusionsdruck niederschlägt und dieser somit sehr gut als Indikator für Änderungen des Gefäßtonus geeignet ist.

Ein Nachteil dieser in vitro Methode liegt darin, daß der Ruhetonus aufgrund des Fehlens von Nervenimpulsen und der im Blut zirkulierenden vasoaktiven Substanzen unter dem von in vivo Versuchen liegt, d.h. die Gefäße sind maximal dilatiert. Dieses Problem kann man aber dadurch beseitigen, daß man, wenn nötig, einen künstlichen Vortonus erzeugt (z.B. durch Applikation von Noradrenalin).

Verwendete Geräte

Perfusionspumpe Ismatec IP-4, Fa. G. Heinemann,
Schwäbisch-Gmünd
Kristallmembranometer der Fa. S.W. Hansen, Kopenhagen
Mehrkanalschreiber

Verwendete Substanzen

O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside, Wirkstoff von Venoruton^R,
Fa. Zyma
Polidocanol als Aethoxysklerol^R, Fa. Kreussler + Co GmbH,
Wiesbaden. 0,025%-ige Lösung in isotoner
Kochsalzlösung
Adrenalin Suprarenin^R Lösung 1 : 1000, Farbwerke Hoechst AG,
Frankfurt (Main)
Noradrenalin Arterenol^R Lösung 1 : 1000, Farbwerke
Hoechst AG, Frankfurt (Main)
Phentolamin Regitin^R Injektionslösung, CIBA-GEIGY,
Wehr/Baden
HEPARIN-Natrium BRAUN 25000 I.E./5ml, Fa. B. Braun,
Melsungen
Acetylcholin Acetylcholinum ophtalmicum^R Dispersa,
DISPERSA BAESCHLIN GmbH, Germering

IV. ERGEBNISSE

1. Wirkung von HRutosiden auf das Polidocanolödem am Hinterlauf der Katze (in vivo Versuche)

Daß HRutoside bei oraler Applikation von 20 mg/kg/Tag über 4 Tage ödemprotektiv wirken, haben Felix et al. (1983) bereits in Versuchen am Katzenhinterlauf nachgewiesen. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die ödemprotektive Wirksamkeit dieses Flavonoids auch bei niedrigerer Dosierung, jedoch über einen längeren Zeitraum verabreicht, nachzuweisen. Hierzu wurden insgesamt 18 Katzen mit HRutosiden vorgefüttert und zwar nach folgendem Modus:

- 3 Tiere mit 5 mg/kg/Tag 14 Tage lang
- 3 Tiere mit 20 mg/kg/Tag 4 Tage lang
- 6 Tiere mit 10 mg/kg/Tag 14 Tage lang
- 6 Tiere mit 20 mg/kg/Tag 14 Tage lang

An 6 Tieren wurde der Versuch in gleicher Weise durchgeführt wie bei den Verumversuchen, nur mit dem Unterschied, daß eine vorherige Behandlung mit HRutosiden nicht stattfand. Mit den Ergebnissen aus diesen Kontrollversuchen wurden die aus den Versuchen mit vorbehandelten Katzen verglichen.

1.1. Kontrollversuche

Die Kontrollversuche wurden in unregelmäßigen Abständen zwischen den Verumversuchen durchgeführt, um eventuelle Einflüsse wie jahreszeitliche Schwankungen, Austausch bzw. Erneuerungen von zu den Versuchen benötigtem Material oder Geräte, sowie unterschiedlicher Chargen der Chemikalien möglichst auszuschließen. Zwei der Kontrolltiere wurden vor Durchführung des Versuches in Gefangenschaft gehalten. Dadurch konnte ausgeschlossen werden, daß dieser Zeitraum, den die Tiere mit 14-tägiger Vorbehandlung zwangsläufig im Tierstall verbringen mußten, einen Einfluß auf die Ergebnisse hatte.

Flüssigkeits- und Eiweißgehalt in Haut und Muskulatur

Im Gegensatz zum "Ödembein" blieb das "Kontrollbein" physiologisch durchblutet. Somit konnte durch direkten Vergleich zwischen den beiden Gliedmaßen das Ausmaß des durch Polidocanol erzeugten Ödems ermittelt werden.

Nach den in der Methodik beschriebenen Verfahren wurde der Flüssigkeits- und Eiweißgehalt von Haut und Muskulatur in jedem der Beine bestimmt. Durch Differenzbildung der einzelnen Parameter zwischen "Kontroll"- und "Ödembein" konnte errechnet werden, wieviel Flüssigkeit und Eiweiß im Zeitraum vom Beginn der Endothelschädigung bis zum Ende der Gliedmaßenperfusion aus dem Gefäßlumen in das umgebende Gewebe des "Ödembeines" übergetreten sind. Hierbei wurde vorausgesetzt, daß die Nettofiltration bzw. -resorption in beiden Hinterläufen bis zum Beginn der Polidocanolinfusion gleich stark war.

Wie aus Tabelle 2 zu entnehmen ist, bestanden sowohl im Flüssigkeits- als auch im Eiweißgehalt von Haut und Muskulatur signifikante Unterschiede zwischen "Kontroll"- und "Ödembein". Es kam als Folge der Gefäßschädigung zu einer deutlichen Verschiebung von Flüssigkeit und Eiweiß aus der Blutbahn in das Interstitium des umgebenden Gewebes. In der Haut war dieser Übertritt wesentlich geringer als in der Muskulatur.

Tab. 2: Flüssigkeits- und Eiweißübertritt in Haut und Muskulatur der hinteren Extremität der Katze nach Einwirkung von 0,025%-iger Polidocanol-Lösung (Mittelwerte und Standarderror)

	Δ Flüssigkeit	Δ Eiweiß
Haut	$0,71 \pm 0,17^{++}$	$3,04 \pm 0,77^{++}$
Muskel	$1,27 \pm 0,16^{+++}$	$10,45 \pm 1,03^{+++}$

Dimension: Flüssigkeit ml/g Trockengewicht

Eiweiß mg/g Trockengewicht

Δ : Differenz des Flüssigkeits- und Eiweißgehaltes zwischen "Ödem"- und "Kontrollbein"

++ : $p < 0,01$

+++ : $p < 0,001$

Transkapillärer Flüssigkeitsaustausch

Wie bei der Methodik schon beschrieben wurde, zeigten langfristige Änderungen des Volumens in der Überlaufkammer ein Ungleichgewicht im Flüssigkeitsaustausch des perfundierten Gebietes an. Anhand der registrierten Volumenänderungen und den während der Phase der Endothelschädigung im Bein verbliebenen Restvolumina der Spülflüssigkeiten konnte sowohl die gesamte in das "Ödembein" filtrierte Flüssigkeitsmenge als auch die Filtrationsgeschwindigkeit ermittelt werden.

- gesamte Nettofiltration

Hierunter versteht man die gesamte vom Beginn der Endothelschädigung bis zum Versuchsende in das "Ödembein" filtrierte Flüssigkeitsmenge. Sie setzt sich zusammen aus

- der während der Polidocanolinfusion im Bein verbliebenen Flüssigkeitsmenge ($= 2,99 \pm 0,63$ ($\pm$ SE) ml/100g Gewebe),
- der während der zum Ausspülen des Polidocanols durchgeführten Kochsalzspülung im Bein verbliebenen Flüssigkeitsmenge ($= 5,81 \pm 1,11$ ml/100g Gewebe) und

- der während der 45-minütigen Perfusion nach der Endothelschädigungsphase ins Gewebe filtrierte Flüssigkeitsmenge ($= 5,23 \pm 0,98$ ml/100g Gewebe) und betrug insgesamt $14,03 \pm 1,75$ ml/100g Gewebe (siehe Tabelle 4).

- zeitlicher Verlauf der Ödementstehung

Um den Verlauf der Ödementstehung besser erkennen zu können, wurde der Zeitraum der Perfusion zwischen der 20. und 65. Minute in verschiedene Abschnitte aufgeteilt, und die jeweils bis zum Ende dieser Abschnitte filtrierte Flüssigkeitsmenge bestimmt:

20. - 30. Minute	$0,88 \pm 0,16$ ml/100g Gewebe
20. - 40. Minute	$1,79 \pm 0,36$ ml/100g Gewebe
20. - 55. Minute	$3,52 \pm 0,66$ ml/100g Gewebe
20. - 65. Minute	$5,23 \pm 0,98$ ml/100g Gewebe

Bis zur 55. Minute nahm die Menge des Filtrates fast linear zu, während in den letzten 10 Minuten diese Zunahme etwas schneller verlief (s. auch Abbildung 6).

- Filtrationsgeschwindigkeit

Zum gleichen Zwecke wurde auch die Filtrationsgeschwindigkeit zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Endothelschädigung ermittelt. Pro Minute und pro 100g Gewebe wurden

in der 30. Minute	$0,08 \pm 0,02$ ml
in der 40. Minute	$0,12 \pm 0,03$ ml und
in der 55. Minute	$0,13 \pm 0,03$ ml

Flüssigkeit aus dem Gefäßlumen in das umgebende Gewebe filtriert (Tabelle 6, Abbildung 7).

Die Filtrationsgeschwindigkeit erfuhr also von der 30. zur 40. Minute eine relativ starke Zunahme, um dann bis zur 55. Minute fast konstant zu bleiben.

Aus dem zeitlichen Verlauf der Ödementstehung sowie aus den Filtrationsgeschwindigkeiten kann man erkennen, daß der größere Teil der während der Perfusion filtrierte Flüssig-

keitsmenge erst gegen Ende dieser Phase das Gefäßlumen verließ.

1.2. Ödemprotektive Wirksamkeit von HRutosiden bei peroraler Applikation

Mit den Ergebnissen aus den Kontrollversuchen wurden die aus den Verumversuchen verglichen. Die HRutoside sollten aufgrund eines protektiven Schutzmechanismus die Endothelschädigung durch Polidocanol verringern und somit auch den Austritt von Flüssigkeit und Eiweiß aus dem Gefäßlumen. Zweck der vorliegenden Arbeit war es, herauszufinden, ob die ödemprotektive Wirkung von Rutosiden schon mit niedrigeren Dosen als 20 mg/kg, über einen Zeitraum von 14 Tagen appliziert, zu erreichen ist.

Um das zu testen, wurden die Verumversuche in gleicher Weise durchgeführt und ausgewertet wie die Kontrollversuche.

Begonnen wurde mit einer täglichen Dosis von 5 mg/kg 14 Tage lang per os verabreicht. Es zeichnete sich sehr bald ab, daß mit dieser niedrigen Dosis keine ödemprotektive Wirkung zu erwarten war (Tabelle 3, Abbildung 4 und 5). Da nach 3 Versuchen die Werte des Eiweißgehaltes der Gewebeproben im Ödembein der behandelten Katzen sogar über denen der Kontrollversuche lagen, wurden 3 weitere Tiere mit 20 mg/kg/Tag über 4 Tage vorbehandelt. Dies diente zum einen dazu, die Wirksamkeit der im Gegensatz zu früheren Versuchen mit HRutosiden (Felix et al., 1983) neu eingeführten Charge zu testen, zum anderen, um eventuelle Fehler in der Methodik auszuschließen. Da mit dieser Dosis die günstige Wirkung gegenüber dem Eiweißaustritt aus früheren Versuchen (Felix et al., 1983) bestätigt werden konnte, wurde die 14-tägige perorale Vorbehandlung mit den Dosierungen 10 mg/kg/Tag und 20 mg/kg/Tag fortgesetzt.

Flüssigkeits- und Eiweißgehalt in Haut und Muskulatur

Wie schon erwähnt, zeigten 5 mg/kg/Tag, 14 Tage lang vor dem Versuch verabreicht, keine ödemprotektive Wirkung. Der Flüssigkeitsgehalt der Gewebeproben blieb durch diese Dosierung völlig unbeeinflusst. Hinsichtlich des Eiweißübertrittes kam es vor allem in der Haut sogar zu einer Erhöhung gegenüber den Kontrolltieren. Diese Erhöhung war jedoch statistisch nicht signifikant (Tabelle 3, Abbildung 4 und 5).

Auch eine 14-tägige Vorbehandlung mit 10 mg/kg/Tag beeinflusste die Gefäßpermeabilität bezüglich des Flüssigkeitsaustrittes nicht. Die Eiweißgehalte in Haut und Muskulatur lagen jetzt aber unter denen der Kontrollen (Tabelle 3, Abbildung 4 und 5). Während diese Erniedrigung in der Muskulatur nicht wesentlich war, lag sie in der Haut an der Grenze der Signifikanz ($p = 0,068$).

Erst 20 mg/kg/Tag, über 14 Tage verabreicht, ergaben eine signifikante ödemprotektive Wirkung (Tabelle 3, Abbildung 4 und 5). Sowohl der Flüssigkeitsgehalt in der Muskulatur als auch der Eiweißgehalt in Haut und Muskulatur lagen statistisch signifikant unter den Werten der Kontrollversuche. Beim Flüssigkeitsgehalt der Haut konnte trotz einer Verringerung der Werte gegenüber den Kontrollen keine signifikante Wirkung nachgewiesen werden.

Eine Vorbehandlung über 4 Tage mit täglich 20 mg/kg brachte eine Bestätigung der Versuche von Felix et al. (1983). Die ödemprotektive Wirkung war nach 4-tägiger Applikationszeit fast genau so gut wie nach 14-tägiger (Tabelle 3, Abbildung 4 und 5).

Transkapillärer Flüssigkeitsaustausch

- gesamte Nettofiltration

Betrachtet man die Werte von der gesamten in das "Ödembein" filtrierten Flüssigkeitsmenge (= gesamte Nettofiltration) (Tabelle 4), so werden die Ergebnisse, die bei den Gewebeproben erhalten wurden, bestätigt. Erst eine Dosis von

Tab. 3: Ödemprotektive Wirkung von HR bei peroraler Zufuhr am Polidocanolödem im Hinterlauf der Katze.
(Mittelwerte und Standarderror)

	n	MUSKEL		HAUT	
		Δ Flüssigkeit	Δ Protein	Δ Flüssigkeit	Δ Protein
Kontrolle	6	$1,27 \pm 0,16$	$10,45 \pm 1,03$	$0,71 \pm 0,17$	$3,04 \pm 0,77$
5mg/kg/Tag 14 Tg. lang	3	$1,29 \pm 0,22$	$11,86 \pm 0,54$	$0,70 \pm 0,27$	$4,96 \pm 0,61$
10mg/kg/Tag 14 Tg. lang	6	$1,26 \pm 0,34$	$8,37 \pm 0,89$	$0,73 \pm 0,08$	$1,15 \pm 0,54$
20mg/kg/Tag 14 Tg. lang	6	$0,71 \pm 0,13^+$	$5,45 \pm 1,15^{++}$	$0,50 \pm 0,28$	$0,71 \pm 0,37^+$
20mg/kg/Tag 4 Tg. lang	3	$0,82 \pm 0,03$	$4,24 \pm 1,64^{++}$	$0,53 \pm 0,12$	$1,19 \pm 0,66$

Dimensionen: Flüssigkeit: ml/g Trockengewebe

Eiweiß : mg/g Trockengewebe

Δ : Differenz des Flüssigkeits- und Eiweißgehaltes zwischen "Ödem-" und "Kontrollbein"

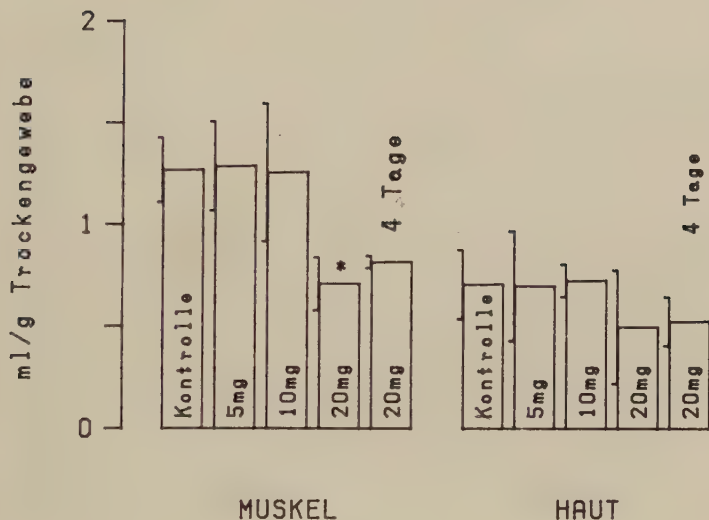


Abb 4: Ödemprotektive Wirkung von HRutosiden gegenüber dem Flüssigkeitsaustritt aus den Gefäßen nach Endothelschädigung mit Polidocanol, gemessen am Gehalt an ml Ödemflüssigkeit pro g Trockengewebe (Mittelwerte und Standarderror). Soweit nicht anders angegeben, wurden die Tiere 14 Tage lang mit der angegebenen Tagesdosis (mg/kg/Tag) vorgefüttert. Erst bei einer Dosis von 20mg/kg/Tag ist eine Hemmung des Flüssigkeitsaustrittes gegenüber den Kontrollen erkennbar. Eine statistisch signifikante Wirkung von HRutosiden trat nur nach 14-tägiger Vorbehandlung mit dieser Dosis und nur im Muskel auf.

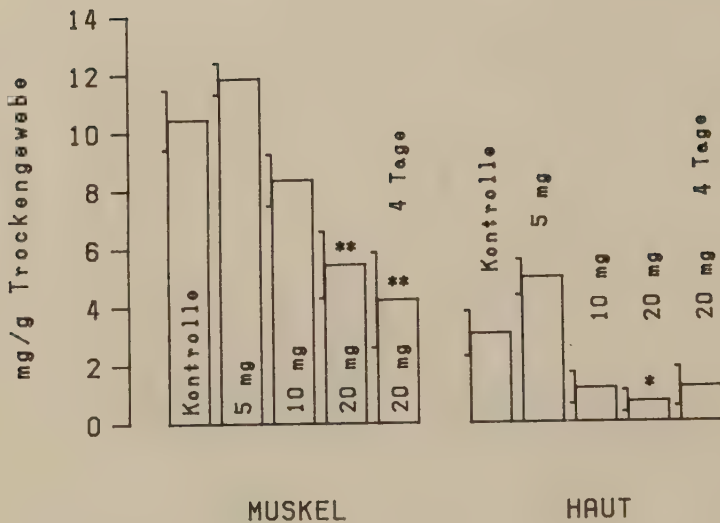


Abb 5: Ödemprotektive Wirkung von HRutosiden gegenüber dem Eiweißaustritt aus den Gefäßen nach Endothelschädigung mit Polidocanol, gemessen am Gehalt an mg Plasmaprotein pro g Trockengewebe (Mittelwerte und Standarderror). Soweit nicht anders angegeben, wurden die Tiere 14 Tage lang mit der angegebenen Tagesdosis (mg/kg/Tag) vorgefüttert. Erst 20mg/kg/Tag bewirkten gegenüber den Kontrolltieren eine statistisch signifikante Verringerung des Gehaltes an Ödemeiweiß im Gewebe. Nach 14-tägiger Vorbehandlung mit 5mg/kg/Tag lagen die Werte über denen der Kontrolltiere, die Erhöhung ist jedoch nicht signifikant.

20 mg/kg/Tag verringert den Flüssigkeitsübertritt in das Gewebe wesentlich, und nur nach 14-tägiger Vorbehandlung mit dieser Dosis wird diese Verringerung statistisch signifikant.

Während der Endothelschädigungsphase (Polidocanolinfusion, Kochsalzspülung) läßt sich keine eindeutig von der Dosis oder Vorbehandlungszeit abhängige Veränderung des ins Gewebe übergetretenen Flüssigkeitsvolumens erkennen.

Lediglich während der Perfusion nach der Endothelschädigungsphase kann eine gewisse Abhängigkeit von diesen beiden Parametern abgeleitet werden. Die Menge des Filtrates nimmt bei 2-wöchiger Vorbehandlung mit zunehmender Dosis kontinuierlich ab, bei 20 mg/kg/Tag wird der niedrigste Wert erreicht. Die nur 4 Tage dauernde Vorfütterung von HRutosiden mit 20 mg/kg/Tag ergab wieder einen deutlich höheren Wert. Nach einer Vorbehandlung der Tiere mit 5 mg/kg/Tag lag das filtrierte Volumen jedoch höher als bei den Kontrollversuchen.

- zeitlicher Verlauf der Ödementstehung

Der zeitliche Verlauf der Flüssigkeitsfiltration in das "Ödembein" während der 45-minütigen Perfusion mit Blut nach der Endothelschädigungsphase ist aus Tabelle 5 und Abbildung 6 ersichtlich.

Eine Vorbehandlung mit täglich 5 mg/kg über 14 Tage hatte in diesem Zeitraum keinen günstigen Einfluß auf die Ödementstehung. Die Zunahme des filtrierten Volumens lag in jedem gemessenen Zeitraum unerwarteterweise sogar höher als bei den Kontrollen.

Nach 10 mg/kg/Tag über 14 Tage verläuft die Entwicklung des Wasserödems im Vergleich zu den Kontrollen nur unwesentlich, nach einer 14-tägigen Applikation von 20 mg/kg/Tag jedoch deutlich langsamer.

Fast unbeeinflusst von HRutosiden bleibt in dieser Versuchsphase der Flüssigkeitsaustritt nach der 4-tägigen Vorbehandlung mit 20 mg/kg/Tag.

Tab. 4: Einfluß von HR auf die gesamte Nettofiltration und deren einzelnen Phasen
(Mittelwerte und Standarderror).

n	<u>Ges. Nettofiltration</u>	davon während		
		<u>Polidocanol-</u> <u>infusion</u>	<u>Kochsalz-</u> <u>spülung</u>	<u>Perfusions-</u> <u>phase</u>
Kontrollen 6	14,03 ± 1,75	2,99 ± 0,63	5,81 ± 1,11	5,23 ± 0,98
5mg/kg/Tag 14 Tg. lang 3	12,27 ± 2,50	2,34 ± 0,60	2,29 ± 1,28	7,64 ± 2,64
10mg/kg/Tag 14 Tg. lang 6	13,91 ± 3,24	3,96 ± 1,60	5,49 ± 1,38	4,46 ± 1,03
20mg/kg/Tag 14 Tg. lang 6	8,14 ± 1,82 ⁺	1,87 ± 0,35	3,47 ± 0,66	2,91 ± 0,78
20mg/kg/Tag 4 Tg. lang 3	9,51 ± 1,05	1,33 ± 0,75	3,17 ± 1,43	5,01 ± 1,69

Dimension: ml/100g Gewebe

Aus Abbildung 6 kann man erkennen, daß sowohl bei den Kontroll- als auch bei den Verumversuchen die Zunahme der in das Gewebe filtrierte Flüssigkeitsmenge fast linear erfolgt. Lediglich in der letzten Phase der Kontrollversuche ist diese Zunahme progressiv erhöht.

- Filtrationsgeschwindigkeit

Bei allen Versuchsgruppen erhöhte sich die Filtrationsgeschwindigkeit im Laufe der 40-minütigen Perfusion nach der Endothelschädigung. Auffallend ist die Tatsache, daß bei den Kontrolltieren dieser Anstieg zwischen der 30. und 40. Minute relativ schnell verlief, um dann etwas zu stagnieren, während bei den übrigen Versuchsgruppen diese Zunahme relativ gleichmäßig erfolgte (Tabelle 6, Abbildung 7).

Bei den 14 Tage lang mit HRutosiden vorbehandelten Tieren kann ein dosisabhängiger Effekt erkannt werden. Je höher die Dosis lag, umso niedriger war die zum jeweils gleichen Zeitpunkt gemessene Filtrationsgeschwindigkeit. Allerdings lag die Geschwindigkeit des Flüssigkeitsaustrittes nach 5 mg/kg/Tag zu jedem gemessenen Zeitpunkt deutlich, wenn auch nicht signifikant, höher und nach 20 mg/kg/Tag, über 4 Tage appliziert, leicht höher als bei den Kontrolltieren.

Den günstigsten Einfluß auf die Filtrationsgeschwindigkeit übten 20 mg/kg/Tag HRutoside aus, wenn sie 14 Tage lang vorgefüttert wurden.

Bei den vorbehandelten Tieren entwickelte sich das Wasserödem also über den gesamten beobachteten Zeitraum gleichmäßig, allerdings bei jeder Versuchsgruppe unterschiedlich stark. Bei den Kontrolltieren dagegen erfuhr die Ödementwicklung in der Schlußphase des Versuches eine, wenn auch geringe, Beschleunigung.

Tab. 5: Einfluß von HR auf den zeitlichen Verlauf der Nettofiltration
(ml/100g Gewebe) während der Perfusion nach der Endothelschädigungs-
phase. (Mittelwerte und Standarderror).

n	20. - 30. Minute	20. - 40. Minute	20. - 55. Minute	20. - 65. Minute
Kontrollen 6	0,88 ± 0,16	1,79 ± 0,36	3,52 ± 0,66	5,23 ± 0,98
5mg/kg/Tag 14 Tg. lang 3	0,84 ± 0,10	2,85 ± 1,23	5,64 ± 2,37	7,64 ± 2,64
10mg/kg/Tag 14 Tg. lang 6	0,65 ± 0,16	1,61 ± 0,43	3,22 ± 0,80	4,64 ± 1,03
20mg/kg/Tag 14 Tg. lang 6	0,26 ± 0,11 ⁺⁺	0,87 ± 0,22	2,09 ± 0,53	2,91 ± 0,78
20mg/kg/Tag 4 Tg. lang 3	0,87 ± 0,37	1,94 ± 0,66	3,64 ± 1,23	5,01 ± 1,69

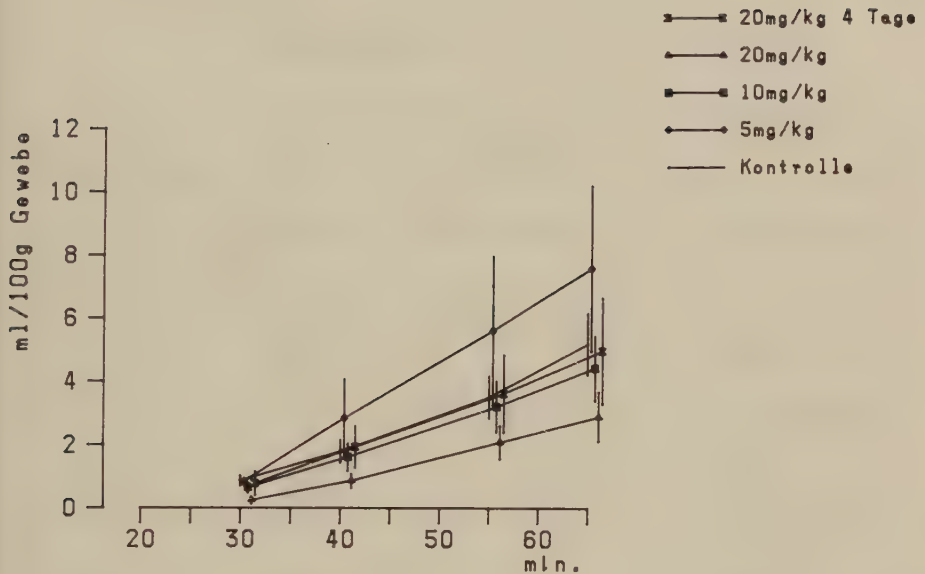


Abb 6: Zeitlicher Verlauf der Entstehung des Wasserödems während der Perfusionsphase nach der Endothelschädigung. Die Zunahme der in das Gewebe filtrierten Flüssigkeitsmenge erfolgte bei allen Versuchen fast linear. Nach 14-tägiger Vorbehandlung mit 10mg/kg/Tag HRutosiden entwickelte sich das Ödem etwas langsamer, mit 20mg/kg/Tag deutlich langsamer.

Tab. 6: Einfluß von HR auf die Filtrationsgeschwindigkeit (ml/min./100g Gewebe) des perfundierten Hinterlaufes der Katze nach der Endothelschädigung. (Mittelwerte und Standarderror).

	n	30. Minute	40. Minute	55. Minute
Kontrollen	6	0,08 $\pm$ 0,02	0,12 $\pm$ 0,03	0,13 $\pm$ 0,03
5mg/kg/Tag 14 Tg. lang	3	0,18 $\pm$ 0,11	0,20 $\pm$ 0,11	0,20 $\pm$ 0,06
10mg/kg/Tag 14 Tg. lang	6	0,09 $\pm$ 0,02	0,10 $\pm$ 0,02	0,12 $\pm$ 0,03
20mg/kg/Tag 14 Tg. lang	6	0,06 $\pm$ 0,02	0,07 $\pm$ 0,02	0,09 $\pm$ 0,03
20 mg/kg/Tag 4 Tg. lang	3	0,11 $\pm$ 0,02	0,13 $\pm$ 0,05	0,14 $\pm$ 0,04

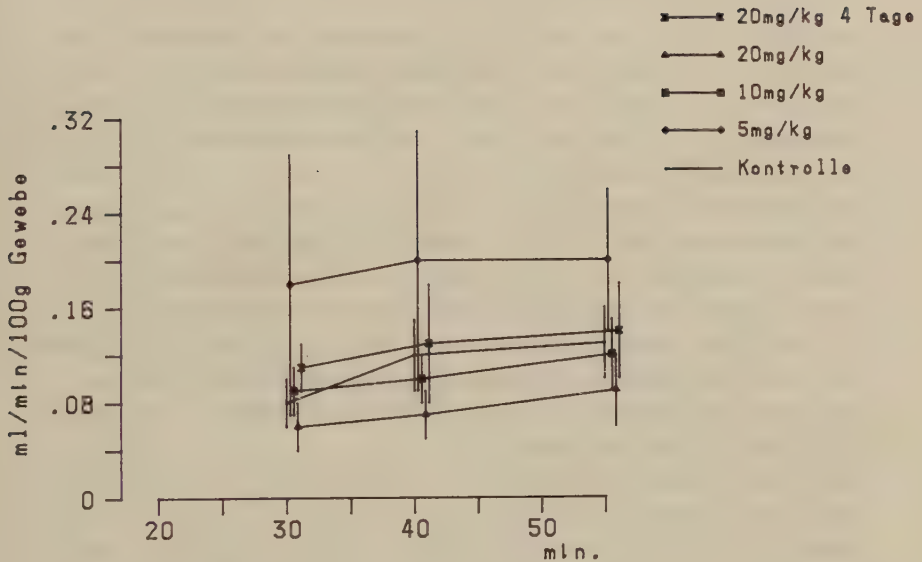


Abb 7: Einfluß verschiedener Dosierungen von HRutosiden auf die Filtrationsgeschwindigkeit (ml/min/100g Gewebe) zu verschiedenen Zeitpunkten der Perfusionsphase nach der Endothelschädigung. Bei allen Versuchsgruppen erhöhte sich die Filtrationsgeschwindigkeit im Laufe dieser Phase. Den günstigsten Einfluß übte eine 14-tägige Vorbehandlung mit 20mg/kg/Tag HRutosiden aus. Nach 5mg/kg/Tag (14 Tage) und 20mg/kg/Tag (4 Tage) lagen die Werte höher als bei den Kontrollen. Dies war jedoch nicht signifikant.

1.3. Blutdruck, Perfusionsdruck

Bezüglich Blutdruck und Perfusionsdruck war gegenüber den Kontrolltieren kein Einfluß einer Vorbehandlung mit HRutosiden zu erkennen. Abb. 8 zeigt stellvertretend für alle Versuche das Verhalten dieser Kreislaufparameter im Laufe der Kontrollversuche.

Der Blutdruck nahm sowohl bei den Kontroll- als auch bei den Verumversuchen bis zum Beginn der Endothelschädigungsphase kontinuierlich ab. Diese Abnahme kam während der Beinspülung zum Stillstand, bei einigen Versuchen stieg er in dieser Phase sogar wieder leicht an. Unmittelbar nach der Endothelschädigungsphase fiel der Blutdruck noch einmal etwas ab und blieb dann bis zum Versuchsende konstant auf diesem niedrigen Wert.

Auch der Perfusionsdruck zeigte während des Versuchsablaufes sowohl bei den Kontrolltieren als auch bei den vorbehandelten Katzen gleiche charakteristische Veränderungen. Während der Perfusionsphase vor der Beinspülung stieg er leicht und nach der Endothelschädigung relativ stark an. In der Zeit der Endothelschädigungsphase war der Perfusionsdruck praktisch null.

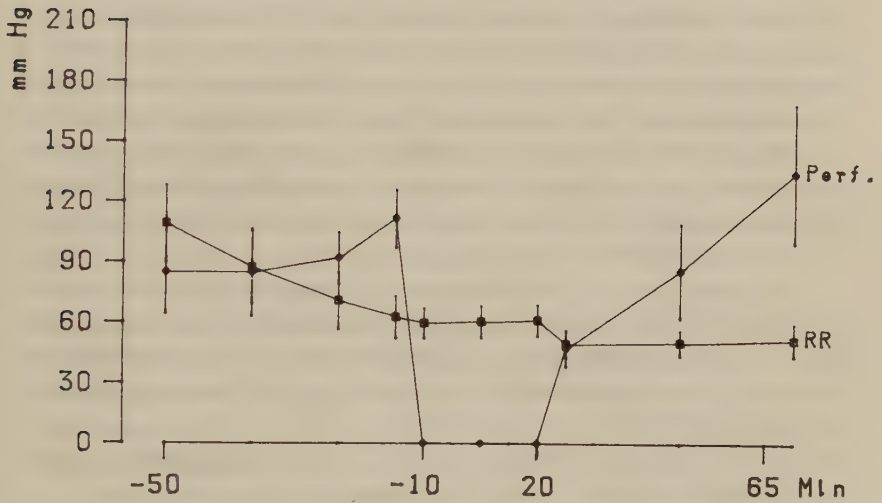


Abb. 8: Darstellung der Kreislaufparameter Blutdruck (RR) und Perfusionsdruck (Perf) während des Versuchsablaufes (Kontrollversuche)
Mittelwerte $\pm$ SE

2. Wirkung von HRutosiden an isolierten Meerschweinchenkarotiden (in vitro Versuche)

Parallel zu den in vivo Versuchen am Hinterlauf der Katze wurde die gefäßschützende Wirkung von HRutosiden an isolierten Karotisabschnitten von Meerschweinchen getestet. Eine Perfusion dieser Gefäßabschnitte mit 0,025%-iger Polidocanollösung (Aethoxysklerol^R, in Krebslösung gelöst) über einen Zeitraum von 13 Minuten sollte die Gefäßintima schädigen. Das Ausmaß dieser Schädigung wurde in den Kontrollversuchen ermittelt. Als Indikator diente die Stärke der Gefäßkontraktion auf die Applikation von Noradrenalin.

Bei den einzelnen Versuchen wurde in zeitlich etwa gleichen Abständen sowohl vor als auch nach der Polidocanolperfusion das Noradrenalin nach folgendem Schema verabreicht: Noradrenalin 10^{-6} m iv., Noradrenalin 10^{-6} m iB., Noradrenalin 10^{-5} m iv., Noradrenalin 10^{-5} m iB. Das Katecholamin war in Krebslösung gelöst. Die Applikation dauerte jeweils so lange, bis die Gefäßabschnitte keine weitere Tonuszunahme mehr zeigten. Anschließend ließ es sich schnell wieder durch die Krebslösung ausspülen. Bei jeder Noradrenalinreaktion wurden Anstiegsgeschwindigkeit und Maximum (in mmHg) der Gefäßkonstriktion ermittelt. Der Vergleich dieser Werte vor und nach der Gefäßschädigung (in %) zeigte das Ausmaß der Schädigung an.

Die Verumversuche wurden in der gleichen Weise durchgeführt, nur mit dem Unterschied, daß vor und zum Teil auch während der Polidocanolperfusion die Gefäßsegmente mit HRutosiden vorbehandelt wurden.

Ein Vergleich der Ergebnisse aus den Kontrollversuchen mit denen der Verumversuche zeigte dann, ob und in welchem Ausmaß ein Gefäßschutz durch die Rutoside erfolgt war.

2.1. Kontrollversuche

Die Kontrollversuche ließen erkennen, daß die 13-minütige Perfusion mit einer 0,025%-igen Polidocanollösung eine signifikante Gefäßschädigung verursachte (Tab. 7 und 8, Abb. 9, 10). So lagen nach der Schädigung sowohl die Anstiegsgeschwindigkeit als auch das Maximum bei intravasaler und extravasaler Applikation der 10^{-6} molaren Noradrenalinlösung um mehr als 90% niedriger als vorher. Bei der 10^{-5} molaren Katecholaminlösung schwächte das Polidocanol Anstiegsgeschwindigkeit und Maximum um etwa 70% ab.

Obwohl das Polidocanol nur über die intimale Gefäßseite verabreicht wurde, sind die Gefäßreaktionen bei intra- und extravasaler Applikation des Noradrenalins nach der Schädigung praktisch gleich stark abgeschwächt (Tab. 8, Abb. 9, 10).

2.2. Verumversuche

Die Applikation der HRutoside erfolgte auf 3 verschiedene Arten:

- 62,5 mg HRutoside/100 ml Krebslösung wurden 20 Minuten lang durch die Karotissegmente perfundiert, und zwar begann diese Perfusion 7 Minuten vor der Verabreichung des Polidocanols und wurde gleichzeitig mit Beendigung der Perfusion der gefäßschädigenden Substanz beendet. Während der 13-minütigen Schädigungsphase wurden die Gefäße also mit einer Mischung aus HRutosiden und Polidocanol durchströmt (—————).
- 62,5 mg HRutoside/100 ml Krebslösung wurden vor der Schädigungsphase 20 Minuten lang perfundiert. Zwischen dem Ende dieser HRutosid-Applikation und der Polidocanolperfusion lag eine Pause von etwa 10 Minuten (————— | ————). Durch diese Applikationsform sollte eine mögliche chemische Wechselwirkung zwischen HRutosiden und Polidocanol ausgeschlossen werden.

Tab. 7: Kontrollversuche: Einfluß einer 13-minütigen Polidocanolperfusion (0,025%-ige Lösung) auf durch Noradrenalin hervorgerufene Gefäßreaktionen. Absolute Werte ($\bar{x} \pm SE$) vor und nach der Gefäßschädigung in mmHg. n = 11

	Noradrenalin 10^{-6}_m		Noradrenalin 10^{-5}_m	
	iv	ib	iv	ib
Ruhewert	$8,50 \pm 0,99$	$8,72 \pm 1,08$	$8,77 \pm 0,99$	$8,25 \pm 0,97$
Anstiegsge- schwindigkeit	$2,06 \pm 0,42$	$0,78 \pm 0,28$	$5,72 \pm 0,84$	$5,09 \pm 0,84$
Δ Ruhewert- Maximum	$6,20 \pm 1,57$	$1,84 \pm 0,61$	$15,12 \pm 2,94$	$18,37 \pm 2,72$
Polidocanol 0,025% 13 Minuten iv				
Ruhewert	$10,87 \pm 1,39$	$10,62 \pm 1,37$	$9,73 \pm 1,17$	$9,36 \pm 1,14$
Anstiegsge- schwindigkeit	$0,06 \pm 0,02$ +++	$0,02 \pm 0,02$ +	$2,09 \pm 0,49$ +++	$1,82 \pm 0,50$ ++
Δ Ruhewert- Maximum	$0,25 \pm 0,11$ ++	$0,03 \pm 0,03$ +	$4,32 \pm 0,86$ ++	$4,89 \pm 1,35$ +++

Tab. 8: Kontrollversuche: Noradrenalinwirkung nach der Gefäßschädigung durch 13-minütige Polidocanolperfusion (0,025%-ige Lösung). Werte ($\bar{x} \pm SE$) in %. (Vor der Schädigung = 100%)
n = 11

	Noradrenalin $10^{-6}m$		Noradrenalin $10^{-5}m$	
	iv	iB	iv	iB
Anstiegs- geschwindigkeit	4,17 $\pm$ 1,78 +++	2,50 $\pm$ 2,50 +++	37,16 $\pm$ 7,67 +++	36,59 $\pm$ 9,01 +++
Δ Ruhewert Maximum	7,28 $\pm$ 4,54 +++	2,83 $\pm$ 2,83 +++	33,15 $\pm$ 7,73 +++	27,57 $\pm$ 8,84 +++

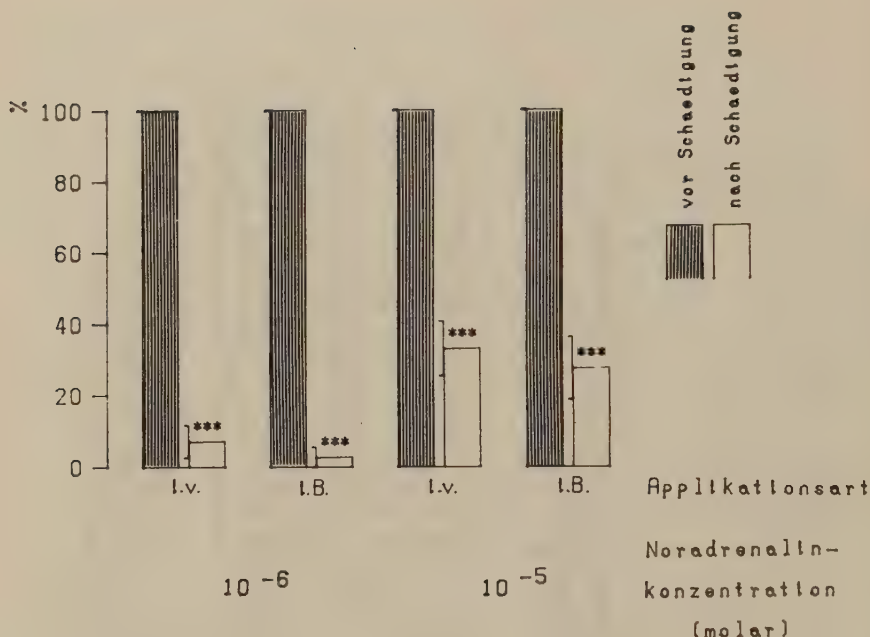


Abb. 9: Kontrollversuche über die Wirkung einer 13-minütigen Polidocanolperfusion (0,025%) auf die Anstiegsgeschwindigkeit ($\Delta p / \Delta t$) von durch intra- und extravasale Applikation zweier verschiedener Noradrenalin-konzentrationen hervorgerufenen Gefäßkonstriktion.

Die Anstiegsgeschwindigkeit ist bei der niedrigeren Noradrenalin-konzentration (10^{-6} molar) stärker gehemmt als bei der höheren (10^{-5} molar). Die Schädigung ist aber bei beiden Konzentrationen und Applikationsarten signifikant.

Angaben in %; vor der Schädigung = 100%;

nach der Schädigung: $\bar{x} \pm SE$; n = 11

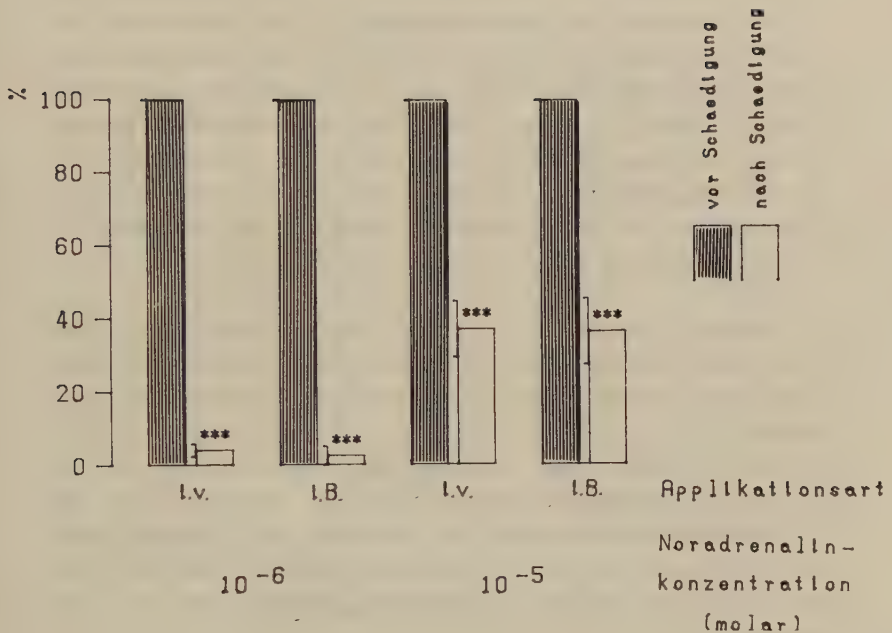


Abb. 10: Kontrollversuche über die Wirkung einer 13-minütigen Polidocanolperfusion (0,025%) auf das Maximum von durch intra- und extra-vasale Applikation zweier verschiedener Noradrenalin-Konzentrationen hervorgerufenen Gefäßkonstriktion.

Das Maximum ist bei der niedrigeren Noradrenalin-Konzentration (10^{-6} molar) stärker gehemmt als bei der höheren (10^{-5} molar). Die Schädigung ist aber bei beiden Konzentrationen und Applikationsarten signifikant.

Angaben in %; vor der Schädigung = 100%;
nach der Schädigung: $\bar{x} \pm SE$; n = 11

- 50 mg/kg HRutoside (in isotoner Kochsalzlösung) wurden 90 Minuten vor der Gefäßentnahme in die freipräparierte V. jugularis injiziert. Falls für die gefäßschützende Wirkung von HRutosiden ein vitaler Prozeß eine Rolle spielt, müßte sich dies in dieser Versuchsreihe zeigen. Die 62,5 mg HRutoside/100 ml Krebslösung entsprechen einer Blutkonzentration, die sich aus einer intravenösen Injektion von 50 mg/kg ergeben, wenn man als Blutmenge des Tieres 8% vom Körpergewicht veranschlagt.

Wie aus den Tabellen 9, 10 und 11 zu erkennen ist, konnte Polidocanol auch bei den mit HRutosiden vorbehandelten Gefäßen einen in der Regel signifikanten Gefäßschaden erzeugen.

Bei keiner dieser drei Applikationsformen konnte ein signifikanter Gefäßschutz erreicht werden. Die Werte der Anstiegsgeschwindigkeit und des Maximums der Gefäßtonisierung lagen nach der Schädigung im Größenbereich wie bei den Kontrollversuchen, oft sogar niedriger (Tab. 12, Abb. 11 und 12).

Von den Verumversuchen reagierten die Gefäße, welche 90 Minuten vor der Präparation durch eine intravenöse Applikation von 50 mg/kg HRutosiden vorbehandelt wurden, nach der Schädigung am schlechtesten gegenüber Noradrenalin.

Zwischen den beiden Versuchsreihen, in denen die HRutosid-Lösung perfundiert wurde, war kein wesentlicher regelmäßiger Unterschied erkennbar.

Wie schon bei den Kontrollversuchen war auch bei den Verumversuchen die Reaktivität der Gefäße gegenüber der niedrigeren Noradrenalinkonzentration stärker gehemmt als gegenüber der höheren.

Tab. 9: Behandlung der Gefäße durch 20-minütige Perfusion einer 0,0625%-igen HR-Lösung vor und während der Gefäßschädigung ($\overline{\text{---}}$). Vergleich der Gefäßreaktivität gegenüber Noradrenalin vor und nach der Behandlungs- und Schädigungsphase. Absolute Werte in mmHg ($\bar{x} \pm SE$). $n = 11$

	Noradrenalin $10^{-6}m$		Noradrenalin $10^{-5}m$	
	iv	ib	iv	ib
Ruhewert	$7,95 \pm 0,98$	$7,55 \pm 0,84$	$7,69 \pm 0,78$	$7,77 \pm 0,83$
Anstiegs- geschwindigkeit	$2,87 \pm 0,70$	$0,96 \pm 0,23$	$5,84 \pm 0,89$	$6,03 \pm 1,01$
Δ Ruhewert- Maximum	$6,11 \pm 1,44$	$1,87 \pm 0,48$	$12,35 \pm 1,91$	$15,17 \pm 1,81$
	HR 0,0625% 20 Min. + Polidocanol 0,025% 13 Min ($\overline{\text{---}}$)			
Ruhewert	$10,07 \pm 1,12$	$9,97 \pm 1,09$	$9,50 \pm 0,94$	$9,44 \pm 0,88$
Anstiegs- geschwindigkeit	$0,12 \pm 0,04$ ++	$0,01 \pm 0,01$ ++	$1,46 \pm 0,42$ +++	$1,88 \pm 0,33$ ++
Δ Ruhewert- Maximum	$0,56 \pm 0,17$ ++	$0,04 \pm 0,04$ ++	$3,10 \pm 0,69$ +++	$8,01 \pm 1,84$ ++

Tab. 10: Vorbehandlung der Gefäße durch 20-minütige Perfusion einer 0,0625%-igen HR-Lösung vor der Gefäßschädigung (—————, ————, ————). Vergleich der Gefäßtonisierung auf Noradrenalin vor und nach der Behandlungs- und Schädigungsphase. Absolute Werte in mmHg ($\bar{x} \pm SE$). n = 8

	Noradrenalin $10^{-6}M$		Noradrenalin $10^{-5}M$	
	iv	ib	iv	ib
Ruhewert	$7,44 \pm 1,18$	$7,64 \pm 1,22$	$7,26 \pm 1,22$	$7,21 \pm 1,22$
Anstiegsge- schwindigkeit	$1,57 \pm 0,25$	$0,62 \pm 0,22$	$5,61 \pm 0,96$	$4,32 \pm 0,90$
Δ Maximum- Ruhewert	$4,80 \pm 0,46$	$1,47 \pm 0,42$	$12,74 \pm 1,77$	$17,20 \pm 2,38$
HR 0,0625% 20 Min. + Polidocanol 0,025% 13 Min (—————, ————)				
Ruhewert	$9,08 \pm 1,03$	$8,84 \pm 0,98$	$8,55 \pm 1,08$	$8,36 \pm 1,00$
Anstiegsge- schwindigkeit	$0,26 \pm 0,16$ ++	$0,00 \pm 0,00$ +	$1,72 \pm 0,39$ ++	$1,18 \pm 0,31$ +
Δ Ruhewert- Maximum	$0,50 \pm 0,26$ +++	$0,00 \pm 0,00$ ++	$3,36 \pm 0,70$ +++	$3,49 \pm 0,82$ ++

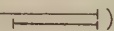
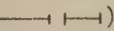
Tab. 11: Vorbehandlung der Gefäße durch intravenöse Injektion von 50 mg/kg HR 90 Minuten vor Gefäßentnahme. Vergleich der Gefäßtonisierung auf Noradrenalin vor und nach der Schädigungsphase. Absolute Werte in mmHg ($\bar{x} \pm SE$). n = 6

	Noradrenalin 10^{-6} m		Noradrenalin 10^{-5} m	
	iv	iB	iv	iB
Ruhewert	$13,07 \pm 2,07$	$12,50 \pm 1,94$	$11,87 \pm 1,87$	$11,65 \pm 1,77$
Anstiegsge- schwindigkeit	$1,10 \pm 0,29$	$0,62 \pm 0,30$	$5,46 \pm 0,56$	$7,65 \pm 1,81$
Δ Ruhewert- Maximum	$2,85 \pm 0,53$	$1,29 \pm 0,83$	$11,75 \pm 1,65$	$20,51 \pm 4,61$
	Polidocanol 0,025% 13 Min.			
Ruhewert	$13,64 \pm 1,57$	$13,64 \pm 1,57$	$12,51 \pm 1,55$	$12,37 \pm 1,60$
Anstiegsge- schwindigkeit	$0,00 \pm 0,00$ ++	$0,00 \pm 0,00$	$0,76 \pm 0,32$ +++	$2,44 \pm 1,10$ ++
Δ Ruhewert- Maximum	$0,00 \pm 0,00$ ++	$0,00 \pm 0,00$	$1,84 \pm 0,75$ +++	$3,73 \pm 1,42$ ++

Tab. 12a: Vergleich der Gefäßtonisierung durch Noradrenalin (Anstiegsgeschwindigkeit) nach der Gefäßschädigung (Polidocanolperfusion, 13 Min.) zwischen Kontrollversuchen und Verumversuchen.
Werte ($\bar{x}$, SE) in % (vor der Schädigung = 100%)

	Noradrenalin 10^{-6}_m		Noradrenalin 10^{-5}_m		
	iv	iB	iv	iB	
Kontrollen	4,17 1,78	2,50 2,50	37,16 7,67	36,59 9,01	$\bar{x}$ SE n=11
Polidocanol					
HR 62,5 mg/ 100 ml () +Polidocanol	4,95 2,26	0,54 0,54	24,19 4,62	39,28 7,10	$\bar{x}$ SE n=11
HR 62,5 mg/ 100 ml () +Polidocanol	17,82 9,37	0,00 0,00	35,22 6,60	35,59 8,03	$\bar{x}$ SE n=8
HR 50 mg/kg intravenös +Polidocanol	0,00 0,00	0,00 0,00	12,77 ⁺ 4,84	31,22 9,54	$\bar{x}$ SE n=6

Tab. 12b: Vergleich der Gefäßtonisierung durch Noradrenalin (Δ Ruhewert - Maximum) nach der Gefäßschädigung (Polidocanolperfusion, 13 Min.) zwischen Kontrollversuchen und Verumversuchen. Werte ($\bar{x}$, SE) in % (vor der Schädigung = 100%)

	Noradrenalin 10^{-6}_m		Noradrenalin 10^{-5}_m		
	iv	iB	iv	iB	
Kontrollen	7,28 4,54	2,83 2,83	33,15 7,73	27,57 8,84	$\bar{x}$ SE n = 11
Polidocanol					
HR 62,5 mg/ 100 ml () +Polidocanol	9,09 3,38	1,30 1,30	26,59 4,53	51,91 10,57	$\bar{x}$ SE n = 11
HR 62,5 mg/ 100 ml () +Polidocanol	9,45 4,42	0,00 0,00	27,59 4,78	25,26 8,00	$\bar{x}$ SE n = 8
HR 50 mg/kg intravenös +Polidocanol	0,00 0,00	0,00 0,00	13,99 4,28	17,29 4,04	$\bar{x}$ SE n = 6

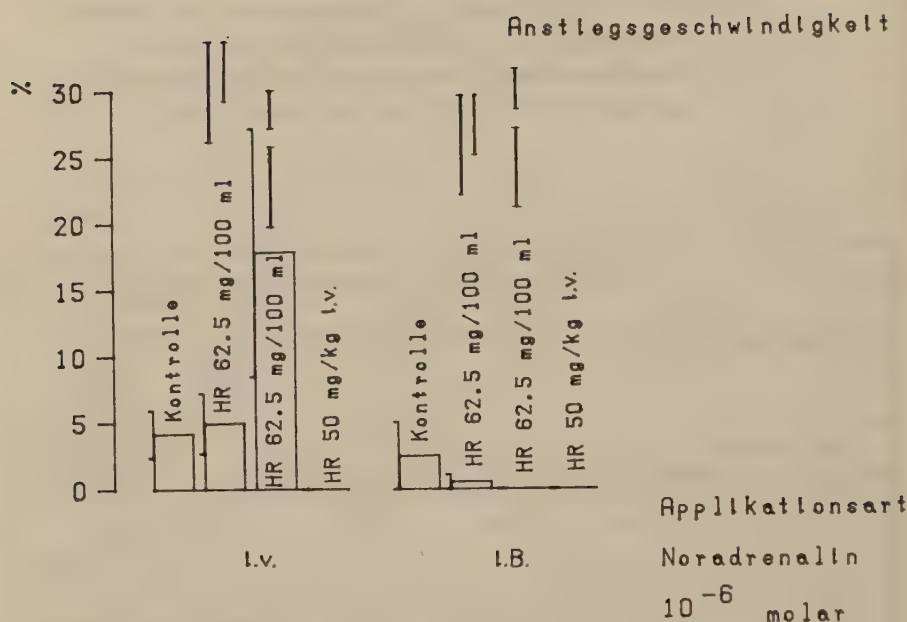


Abb. 11: Vergleich des Einflusses verschiedener Applikationsformen von HRutosiden (HR) auf die Gefäßschädigung durch Polidocanol, gemessen an der Reaktivität (Anstiegsgeschwindigkeit) von Karotisabschnitten gegenüber intra- und extra-vasaler Applikation von Noradrenalin (10^{-6} molar).

Durch keine der drei Verabreichungsarten des HR konnte eine signifikante Erhöhung der Anstiegsgeschwindigkeit gegenüber den Kontrollgefäßen erreicht werden.

Angaben in % ($\bar{x} \pm SE$) zu den jeweiligen Reaktionen vor der Gefäßschädigung (= 100%)

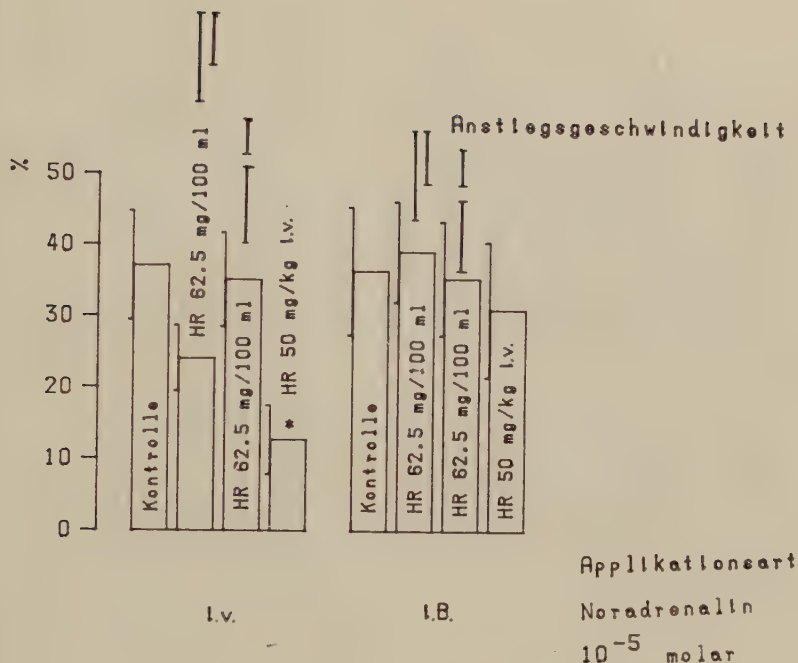


Abb. 11a: Vergleich des Einflusses verschiedener Applikationsformen von HRutosiden (HR) auf die Gefäßschädigung durch Polidocanol, gemessen an der Reaktivität (Anstiegsgeschwindigkeit) von Karotisabschnitten gegenüber intra- und extravasaler Applikation von Noradrenalin (10^{-5} molar).

Durch keine der drei Verabreichungsarten des HR konnte eine signifikante Erhöhung der Anstiegsgeschwindigkeit gegenüber den Kontrollgefäßen erreicht werden.

Angaben in % ($\bar{x} \pm SE$) zu den jeweiligen Reaktionen vor der Gefäßschädigung (= 100%)

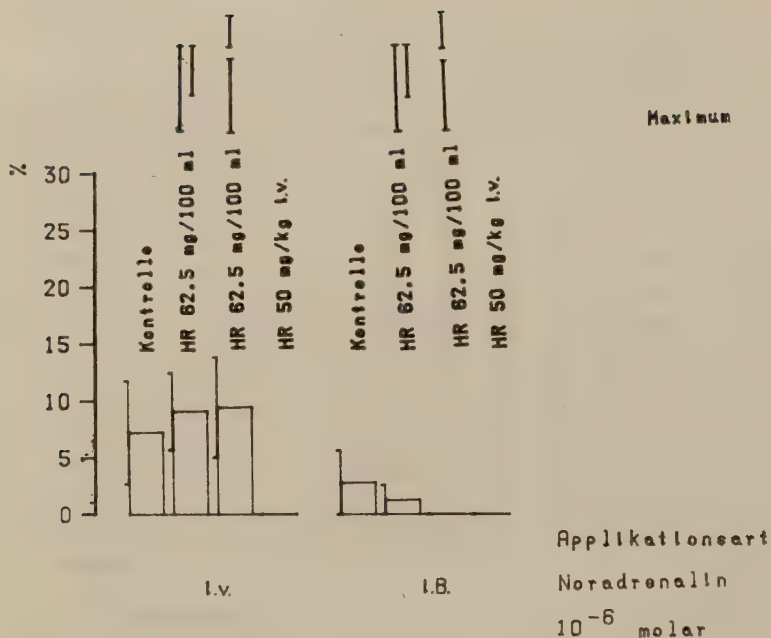


Abb. 12: Vergleich des Einflusses verschiedener Applikationsformen von HRutosiden (HR) auf die Gefäßschädigung durch Polidocanol, gemessen an der Reaktivität (Maximum) von Karotisabschnitten gegenüber intra- und extravasaler Applikation vor Noradrenalin (10^{-6} molar).

Durch keine der drei Verabreichungsarten des HR konnte eine signifikante Erhöhung des Maximums gegenüber den Kontrollgefäßen erreicht werden.

Angaben in % ($\bar{x} \pm SE$) zu den jeweiligen Reaktionen vor der Gefäßschädigung (= 100%)

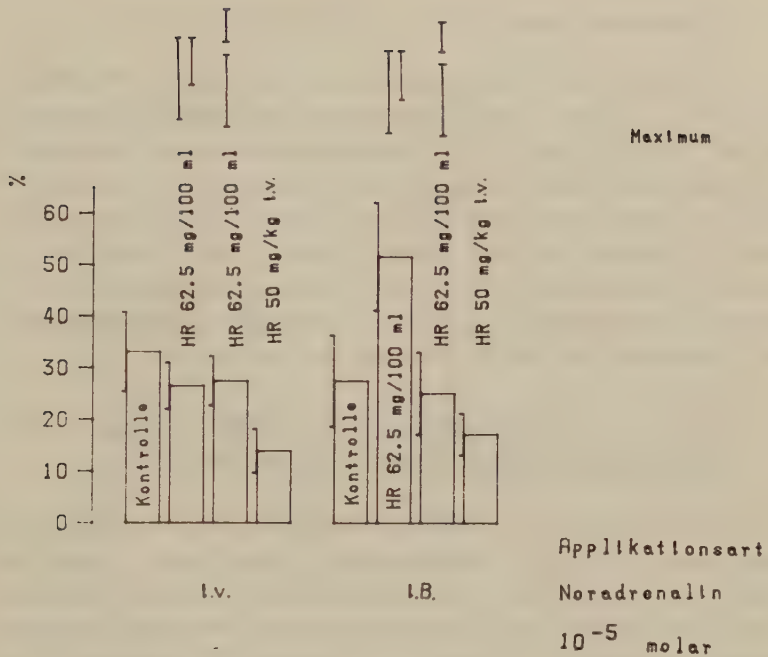


Abb. 12a: Vergleich des Einflusses verschiedener Applikationsformen von HRutosiden (HR) auf die Gefäßschädigung durch Polidocanol, gemessen an der Reaktivität (Maximum) von Karotisabschnitten gegenüber intra- und extravasaler Applikation von Noradrenalin (10^{-5} molar). Durch keine der drei Verabreichungsarten des HR konnte eine signifikante Erhöhung des Maximums gegenüber den Kontrollgefäßen erreicht werden.

Angaben in % ($\bar{x} \pm SE$) zu den jeweiligen Reaktionen vor der Gefäßschädigung (= 100%)

3. Versuche zur Reaktivität der Karotisabschnitte

Der zum Testen der gefäßschützenden Wirkung von HRutosiden an isolierten Karotisabschnitten verwendete Versuchsaufbau bot sich dazu an, in weiterführenden Experimenten die Reaktivität der Gefäßabschnitte gegenüber Katecholaminen zu prüfen. Weiterhin konnten der Einfluß von Polidocanol, HRutosiden und dem α -Blocker Phentolamin auf die Gefäßtonisierung untersucht, und aus diesen Experimenten Rückschlüsse auf die Lokalisation von α -Rezeptoren innerhalb der Gefäßwand gezogen werden.

3.1. Vergleich der Gefäßreaktionen zwischen intra- und extravasaler Applikation von Noradrenalin

Bei einer Lokalisation von α -Rezeptoren auf oder nahe den Endothelzellen könnte man ein unterschiedliches Reaktionsverhalten der Gefäßabschnitte bei intra- und extravasaler Applikation des Katecholamins erwarten. So müßte nach Verabreichung von Noradrenalin via Intima eine Gefäßtonisierung schon bei niedrigeren Konzentrationen auftreten als bei Applikation über das Gefäßbad. Auch die Anstiegsgeschwindigkeit dieser Gefäßtonisierung müßte schneller erfolgen, da das Katecholamin direkt an diesen Rezeptoren wirken kann und durch keine Gefäßschichten diffundieren muß, um an den Angriffspunkt für seine Wirkung zu gelangen.

Um dies zu überprüfen wurden verschiedene Konzentrationen von Noradrenalin (von 10^{-7} bis 10^{-5} molar) sowohl intravasal als auch extravasal verabreicht. Die unterschiedlichen Gefäßreaktionen bei den verschiedenen Applikationsformen wurden bei jeder der verwendeten Konzentrationen miteinander verglichen (Tab. 13, 14, Abb. 13).

Die obigen Vermutungen wurden durch die Ergebnisse in dieser Versuchsreihe nur zum Teil bestätigt. Eine 10^{-7} molare Noradrenalinlösung vermochte nur bei intravasaler Applikation

Tab. 13: Vergleich der gefäßtonisierenden Wirkung verschiedener Noradrenalin-konzentrationen zwischen intra- und extravasaler Applikation.

Absolute Werte in mmHg, ($\bar{x} \pm SE$).

Noradrenalin- konzentration	10 ⁻⁷ molar	10 ⁻⁶ molar	5x10 ⁻⁶ molar	10 ⁻⁵ molar
	intrasasal			
Applikationsart	n = 8	n = 79	n = 24	n = 79
Ruhewert	8,18 ± 0,67	9,16 ± 0,46	10,13 ± 0,87	8,79 ± 0,43
Anstiegsgeschw.	1,06 ± 0,36	1,98 ± 0,15	3,58 ± 0,51	5,86 ± 0,36
Maximum	2,90 ± 0,54	5,80 ± 0,48	16,95 ± 1,76	15,21 ± 1,02
Applikationsart	extravasal			
Ruhewert	8,07 ± 0,66	8,94 ± 1,36	10,33 ± 1,00	8,72 ± 0,42
Anstiegsgeschw.	0,00 ± 0,00	0,75 ± 0,08 ⁺⁺⁺	3,85 ± 0,66	6,20 ± 0,50
Maximum	0,00 ± 0,00	1,72 ± 0,20 ⁺⁺⁺	19,30 ± 2,31	20,15 ± 1,34 ⁺

Tab. 14: Vergleich der gefäßtonisierenden Wirkung zwischen intra- und extravasaler Applikation verschiedener Noradrenalin-konzentrationen.

Angaben der iB.- Reaktionen als % der iv.- Reaktionen (=100%) ($\bar{x} \pm SE$).

Noradrenalin-konzentration	10 ⁻⁷ molar	10 ⁻⁶ molar	5x10 ⁻⁶ molar	10 ⁻⁵ molar
	n = 8	n = 79	n = 24	n = 79
Anstiegsgeschw.	0,00 $\pm$ 0,00	45,27 $\pm$ 5,91 ⁺⁺⁺	108,84 $\pm$ 12,50	113,10 $\pm$ 7,50
Maximum	0,00 $\pm$ 0,00	32,97 $\pm$ 3,27 ⁺⁺⁺	112,25 $\pm$ 6,18	140,15 $\pm$ 4,84 ⁺⁺

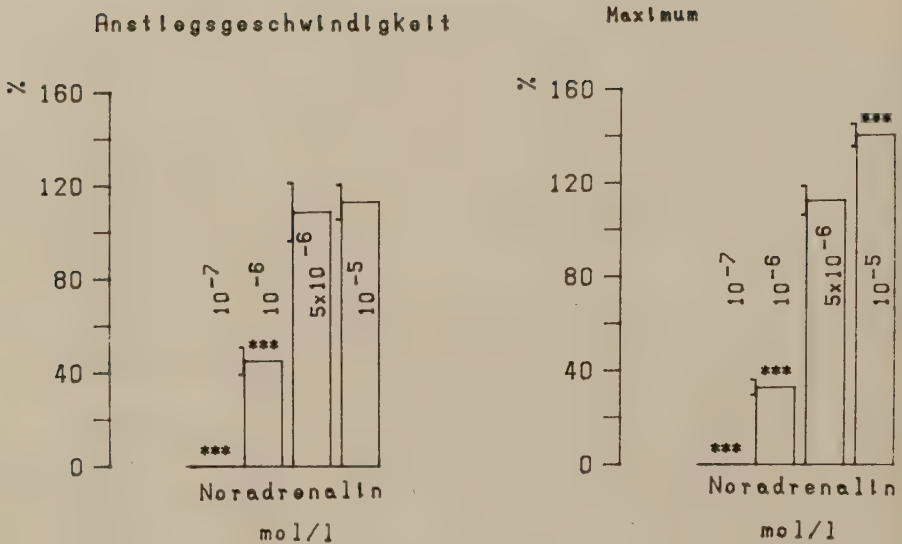


Abb. 13: Vergleich der gefäßtonisierenden Wirkung verschiedener NoradrenalinKonzentrationen (10^{-7} bis 10^{-5} mol/l) zwischen intra- und extravasaler Applikation. Die Säulen zeigen die Anstiegsgeschwindigkeit und das Maximum der Gefäßtonisierung bei extravasaler Applikation in Relation zur intravasalen Verabreichung (= 100%) des Katecholamins.

Mit zunehmender NoradrenalinKonzentration nimmt die ib-Reaktivität gegenüber der iv-Reaktivität zu.

Angaben in %; $\bar{x} \pm SE$.

eine leichte Gefäßtonisierung hervorrufen. Mit Noradrenalinkonzentrationen von 10^{-6} molar und höher war dann auch bei extravasaler Applikation eine deutliche Gefäßtonisierung zu erzielen.

Interessant ist, daß bei den niedrigeren Konzentrationen (10^{-7} molar, 10^{-6} molar) die Reaktionen bei intravasaler Applikation deutlich und signifikant stärker waren als die Reaktion bei Verabreichung über das Organbad. Dies betraf sowohl die Anstiegsgeschwindigkeit als auch das Maximum der Gefäßtonisierung. Wie aus Abb. 13 gut zu ersehen ist, verschob sich jedoch das Verhältnis zwischen intravasaler und extravasaler Reaktion mit zunehmender Noradrenalinkonzentration zugunsten der extravasalen Reaktion.

Besonders deutlich war dies bei dem Maximum ausgeprägt. Die extravasale Reaktion lag bei den Noradrenalinkonzentrationen 10^{-7} molar und 10^{-6} molar signifikant niedriger als die intravasale Reaktion. Bei Verabreichung der 5×10^{-6} molaren Noradrenalinlösung lagen die Maxima der Gefäßtonisierung bei intra- und extravasaler Applikation etwa im gleichen Größenbereich, während bei der Katecholaminkonzentration von 10^{-5} molar die extravasale Reaktion signifikant stärker als die intravasale Reaktion war. Der Umschlagpunkt zugunsten der extravasalen Reaktion lag bei diesen Versuchen also bei einer Noradrenalinkonzentration von 5×10^{-6} mol/l.

Was die Anstiegsgeschwindigkeit der Gefäßtonisierung betrifft, so verhielt sie sich bei den Noradrenalinkonzentrationen zwischen 10^{-7} und 5×10^{-6} mol/l im Prinzip genauso wie das Maximum. Bei den beiden niedrigsten Konzentrationen lag sie nach intravasaler Applikation signifikant höher als bei extravasaler, nach 5×10^{-6} mol/l war sie bei beiden Applikationsarten fast gleich groß. Im Gegensatz zur maximalen Gefäßtonisierung konnte eine 10^{-5} molare Noradrenalinlösung bei extravasaler Applikation nur eine unwesentlich höhere Anstiegsgeschwindigkeit als bei intravasaler Applikation hervorrufen.

Tab. 14a: Einfluß einer extravasalen (=iB) Adrenalinapplikation auf einen durch intravasale (=iv) Adrenalinapplikation erzeugten Gefäßtonus.

Absolute Werte (mmHg) und %. ($\bar{x} \pm SE$).

Adrenalinkonzentration jeweils 5×10^{-6} molar.

n = 3	Ruhewert	Maximum	
		Adrenalin iv	Adrenalin iv + iB
mmHg	$9,46 \pm 2,78$	$11,76 \pm 1,61$	$13,78 \pm 1,96^+$
%		$100,00 \pm 0,00$	$117,18 \pm 3,62^+$

Tab. 14b: Einfluß einer intravasalen (=iv) Adrenalinapplikation auf einen durch extravasale (=iB) Adrenalinapplikation erzeugten Gefäßtonus.

Absolute Werte (mmHg) und %. ($\bar{x} \pm SE$).

Adrenalinkonzentration jeweils 5×10^{-6} molar.

n = 3	Ruhewert	Maximum	
		Adrenalin iB	Adrenalin iB + iv
mmHg	$9,46 \pm 2,78$	$9,67 \pm 2,77$	$15,27 \pm 1,72^+$
%		$100,00 \pm 0,00$	$173,70 \pm 31,67$

Tab. 15: Vergleich der Gefäßtonisierung nach Adrenalin-gabe iv + iB mit iB + iv.

Absolute Werte (mmHg) und %. ($\bar{x} \pm SE$).

Adrenalinkonzentration jeweils 5×10^{-6} molar.

n = 3	Ruhewert	Maximum	
		Adrenalin iv + iB	Adrenalin iB + iv
mmHg	$9,46 \pm 2,78$	$13,78 \pm 1,96$	$15,27 \pm 1,72^+$
%		$100,00 \pm 0,00$	$111,99 \pm 4,54$

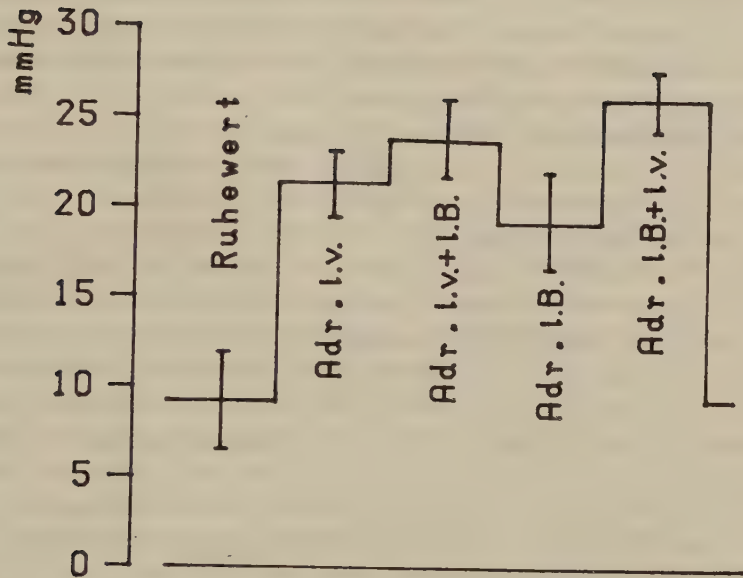


Abb. 14: Verstärkung der intravasalen Adrenalintoni-
sierung durch gleichzeitige Adrenalinapplika-
tion über das Gefäßbad und umgekehrt.
Mittelwerte $\pm$ SE

Um zu klären, ob Katecholamine während intra- oder extravasaler Applikation die gesamte Gefäßwand durchdringen und somit bei beiden Applikationsformen alle in der Gefäßwand verteilten α -Rezeptoren erreichen, wurde nach Erreichen einer maximalen Gefäßtonisierung durch intra- bzw. extravasaler Verabreichung von Adrenalin (5×10^{-6} molar) bei noch bestehender Tonisierung (Plateauphase) jeweils noch extra- bzw. intravasäl die gleiche AdrenalinKonzentration verabreicht, so daß die Gefäßwand schließlich von beiden Seiten mit Katecholaminlösung umspült wurde.

Wurde die Gefäßwand nur von einer Seite her mit dem Adrenalin in Kontakt gebracht, so lag die maximale Gefäßtonisierung bei intravasaler Applikation höher als bei extravasaler (Tab. 14, Abb. 14). Bei beiden Gefäßreaktionen ließ sich dieser Tonus durch Verabreichung des Katecholamins über die jeweils entgegengesetzte Gefäßwandseite noch signifikant verstärken. Allerdings wurde ein schon bestehender Tonus während einer Applikation über das Organbad von Adrenalin durch zusätzliche intravasale Applikation mehr verstärkt als umgekehrt (Tab. 14, Abb. 14).

Vergleicht man das Maximum, welches nach einem "intravasalen Vortonus" und zusätzlicher extravasaler Applikation von Adrenalin erreicht wurde, mit dem eines "extravasalen Vortonus" und zusätzlicher intravasaler Applikation, so besteht zwischen diesen beiden Maxima ein Unterschied in der Form, daß die maximale Tonisierung nach dem zweiten Applikationsmodus signifikant höher liegt (Tab. 15).

3.2. Einfluß der Gefäßschädigung auf das Verhältnis zwischen intravasaler und extravasaler Reaktion von Noradrenalin

In einer weiteren Auswertung der Kontrollversuche aus dem vorhergehenden Abschnitt wurde der Einfluß der 13-minütigen Polidocanolperfusion (0,025%) auf das Verhältnis der Gefäßtonisierung bei intra- und extravasaler Noradrenalinapplikation untersucht.

Da die gefäßschädigende Substanz Polidocanol intravasal verabreicht wurde, konnte man erwarten, daß die Gefäßtonisierung bei intravasaler Applikation des Katecholamins stärker gehemmt ist als bei extravasaler. Betrachtet man die extravasalen Reaktionen in % zur intravasalen Reaktion (Tab. 16), so gelangt man jedoch zu dem überraschenden Ergebnis, daß nach der Schädigung der Gefäßintima sowohl bei der Anstiegsgeschwindigkeit als auch beim Maximum der Gefäßtonisierung die extravasalen Werte relativ niedriger liegen als vor der Schädigung. Obwohl diese Werte die Grenze der Signifikanz nicht erreichen, so zeichnet sich doch recht deutlich ab, daß sich nach Schädigung der Gefäßintima die Reaktivität der Karotisabschnitte zugunsten der intravasalen Applikation des Noradrenalins verschiebt.

3.3. Regeneration der Gefäßabschnitte nach der Schädigung

Um zu überprüfen, ob die Gefäßintima nach deren Schädigung durch Polidocanol wieder regeneriert, wurden Versuche in ähnlicher Weise wie bei den Kontrollversuchen durchgeführt. Nach der Schädigung wurde allerdings die Prüfung der Gefäßreaktivität nach jeweils einer Pause von 30 Minuten noch zweimal wiederholt. Zum Vergleich liefen parallel dazu noch Versuche, in denen anstelle der Polidocanolperfusion nur mit Krebslösung gespült wurde. Die Applikation von Noradrenalin erfolgte jeweils nur als 10^{-5} molare Lösung.

Im Rahmen dieser Versuche wurde auch das Verhalten der Gefäße gegenüber einer intravasalen Applikation von Acetylcholin (10^{-5} molar) geprüft. Das Acetylcholin wurde nach Erzeugung eines Vortonus der Gefäße durch extravasale Applikation des Katecholamins verabreicht. Wie im Kapitel "Schrifttum" schon erwähnt, benötigt Acetylcholin zur Entfaltung seiner gefäßdilatierenden Wirkung das Vorhandensein intakter Endothelzellen. Es kann somit als Indikator für den Zustand dieser Intimaschicht verwendet werden.

Tab. 16: Einfluß einer Schädigung der Gefäßintima durch 13-minütige Polidocanolperfusion auf das Verhältnis der Gefäßtonisierung zwischen iv- und iB-Applikation von Noradrenalin.
Die iB-Reaktion wird in % zur iv-Reaktion (= 100%) angegeben ($\bar{x} \pm SE$, n = 11).

	Noradrenalin	Noradrenalin
	10^{-6} molar iB	10^{-5} molar iB
Anstiegsge- schwindigkeit	$37,91 \pm 10,49$	$98,37 \pm 14,58$
Maximum	$34,57 \pm 9,70$	$133,47 \pm 10,45$
Polidocanol 0,025% 13 Minuten iv		
Anstiegsge- geschwindigkeit	$20,00 \pm 20,00^*$	$82,02 \pm 14,41$
Maximum	$20,00 \pm 20,00^*$	$98,94 \pm 19,31$

* n = 5, da bei den restlichen Versuchen nach der Schädigung sowohl die iv- als auch die iB-Reaktion 0 mmHg war.

Wurden die Gefäße anstelle der Polidocanollösung nur mit Krebslösung perfundiert, nahm die Reaktivität des Gefäßes gegenüber Noradrenalin im Laufe des Versuches leicht zu. Diese Zunahme war jedoch nicht signifikant (Tab. 17). Auch die Wirkung des Acetylcholins gegenüber den Gefäßen veränderte sich nicht wesentlich. Die Gefäßdilatation betrug im Laufe des gesamten Versuches etwa 30% des durch Noradrenalin erzeugten Vortonus (Tab. 18).

Anders waren die Verhältnisse nach der Gefäßschädigung. Unmittelbar nach der Schädigung waren sowohl Anstiegsgeschwindigkeit als auch das Maximum der Gefäßtonisierung stark gehemmt. Abgesehen von der Anstiegsgeschwindigkeit nach intravasaler Applikation von Noradrenalin war diese Hemmung signifikant.

Im weiteren Verlauf des Versuches nahm die Reaktivität der Gefäße gegenüber dem Katecholamin aber stetig zu. Die Werte der Anstiegsgeschwindigkeit und des Maximums lagen ab der zweiten Prüfung der Gefäßreaktivität sogar über denen vor der Schädigung. Diese Zunahme der Empfindlichkeit gegenüber Noradrenalin war zum Versuchsende mit Ausnahme der Anstiegsgeschwindigkeit bei Applikation über das Organbad signifikant (Tab. 19).

Die Acetylcholinwirkung war direkt nach der Polidocanolperfusion völlig verschwunden. Bei der zweiten und dritten Prüfung der Gefäßreaktivität betrug sie, verglichen mit der Wirkung vor der Schädigung, wieder etwa 20%. Diese Hemmung der gefäßdilatierenden Acetylcholinwirkung war während der gesamten Versuchsdauer signifikant (Tab. 20).

Tab.17: Kontrollversuche zur Gefäßregeneration nach Schädigung: Verlauf der Reaktivität der Gefäße gegenüber Noradrenalin im zeitlichen Ablauf des Versuches. Absolute Werte in mmHg und Vergleich der ersten Reaktivitätsprüfung (= 100%) mit den Folgenden in %.
($\bar{x} \pm SE$; n = 3)

	mmHg		%	
	Noradrenalin $10^{-5}m$		Noradrenalin $10^{-5}m$	
	iv	ib	iv	ib
Ruhewert	9,96 $\pm$ 1,35	10,18 $\pm$ 1,58		
Anstiegsgeschw.	2,87 $\pm$ 0,70	2,89 $\pm$ 0,84	100	100
Maximum	18,89 $\pm$ 4,72	20,26 $\pm$ 6,06	100	100
45 Minuten Pause				
Ruhewert	9,63 $\pm$ 2,06	10,01 $\pm$ 1,95		
Anstiegsgeschw.	3,78 $\pm$ 0,72	4,49 $\pm$ 0,76	140,23 $\pm$ 21,35	174,84 $\pm$ 37,28
Maximum	19,35 $\pm$ 3,60	21,42 $\pm$ 2,46	107,66 $\pm$ 11,26	122,00 $\pm$ 27,92
30 Minuten Pause				
Ruhewert	10,05 $\pm$ 1,85	10,30 $\pm$ 1,75		
Anstiegsgeschw.	3,53 $\pm$ 0,35	4,92 $\pm$ 0,80	137,86 $\pm$ 31,31	202,25 $\pm$ 56,63
Maximum	20,44 $\pm$ 3,92	24,09 $\pm$ 4,98	113,03 $\pm$ 10,22	141,52 $\pm$ 39,93
30 Minuten Pause				
Ruhewert	11,20 $\pm$ 2,71	10,91 $\pm$ 2,44		
Anstiegsgeschw.	4,10 $\pm$ 1,26	4,39 $\pm$ 0,32	146,31 $\pm$ 27,33	199,10 $\pm$ 82,70
Maximum	22,82 $\pm$ 5,57	23,05 $\pm$ 5,01	125,48 $\pm$ 19,44	138,75 $\pm$ 43,42

Tab. 18: Kontrollversuche zur Gefäßregeneration nach Schädigung: Verlauf der gefäßdilatierenden Wirkung von Acetylcholin (10^{-5} molar, iv) nach Vortonisierung der Gefäße durch Noradrenalin (10^{-5} molar, iB) im zeitlichen Ablauf des Versuches. Werte als $\bar{x} \pm SE$, n = 3.

Noradrenalin iB Δ Ruhewert- Maximum	Acetylcholin 10^{-5} molar iv	Acetylcholin 10^{-5} molar iv	Vergleich der Acetylcholin- werte
mmHg	mmHg	%	%
1	2	3	4
20,26 $\pm$ 6,06	6,46 $\pm$ 3,26	26,21 $\pm$ 10,60	100
45 Minuten Pause			
21,42 $\pm$ 2,46	6,15 $\pm$ 2,80	26,77 $\pm$ 10,74	116,05 $\pm$ 21,36
30 Minuten Pause			
24,09 $\pm$ 4,98	7,62 $\pm$ 3,07	31,24 $\pm$ 13,26	128,16 $\pm$ 18,36
30 Minuten Pause			
23,05 $\pm$ 5,01	6,43 $\pm$ 2,77	28,73 $\pm$ 13,11	106,08 $\pm$ 12,30

Spalte 1: Vortonus durch Noradrenalin

Spalte 2: Gefäßdilatation durch Acetylcholin; absolute Werte

Spalte 3: Gefäßdilatation durch Acetylcholin als % der durch Noradrenalin erzeugten Vortonisierung (= 100%)

Spalte 4: Vergleich der Acetylcholinwirkung im zeitlichen Verlauf in %.

Die erste Reaktion = 100%.

Tab. 19: Gefäßregeneration nach deren Schädigung durch Polidocanol: Verlauf der Reaktivität der Gefäße gegenüber Noradrenalin im zeitlichen Ablauf des Versuches. Absolute Werte in mmHg und Vergleich der Werte vor der Schädigung (=100%) mit denen nachher in %.
($\bar{x} \pm SE$; n = 7)

	mmHg		%	
	Noradrenalin 10^{-5} molar		Noradrenalin 10^{-5} molar	
	iv	ib	iv	ib
Ruhewert	10,71 $\pm$ 1,66	12,12 $\pm$ 2,32		
Anstiegsgeschw.	4,80 $\pm$ 1,37	4,69 $\pm$ 1,30	100	100
Maximum	22,38 $\pm$ 3,31	25,18 $\pm$ 3,49	100	100
Polidocanol 0,025% 13 Minuten iv				
Ruhewert	11,13 $\pm$ 2,00	10,43 $\pm$ 1,35		
Anstiegsgeschw.	2,64 $\pm$ 0,41	1,40 $\pm$ 0,41 ⁺	70,67 $\pm$ 15,67	35,65 $\pm$ 9,67 ⁺⁺⁺
Maximum	7,50 $\pm$ 1,39 ⁺⁺⁺	8,85 $\pm$ 1,73 ⁺⁺	33,33 $\pm$ 3,03 ⁺⁺	38,04 $\pm$ 8,46 ⁺⁺⁺
30 Minuten Pause				
Ruhewert	10,26 $\pm$ 1,88	10,72 $\pm$ 1,81		
Anstiegsgeschw.	7,43 $\pm$ 1,50 ⁺	3,26 $\pm$ 1,12	172,84 $\pm$ 20,90 ⁺	67,08 $\pm$ 9,51 ⁺
Maximum	49,14 $\pm$ 8,85 ⁺	36,22 $\pm$ 7,67	236,41 $\pm$ 44,83 ⁺	141,57 $\pm$ 18,79
30 Minuten Pause				
Ruhewert	11,26 $\pm$ 1,82	11,34 $\pm$ 1,84		
Anstiegsgeschw.	10,71 $\pm$ 3,34 ⁺	4,94 $\pm$ 1,56	224,74 $\pm$ 44,99 ⁺	102,86 $\pm$ 13,24 ⁺⁺
Maximum	62,73 $\pm$ 13,15 ⁺	50,78 $\pm$ 10,30	300,82 $\pm$ 64,08 ⁺	202,74 $\pm$ 28,73 ⁺⁺⁺

Tab. 20: Gefäßregeneration nach Schädigung durch Polidocanol:
Verlauf der gefäßdilatierenden Wirkung von Acetylcholin
(10^{-5} molar, iv) nach Vortonisierung der Gefäße durch Noradrenalin
(10^{-5} molar, iB) im zeitlichen Ablauf des Versuches.
Werte als $\bar{x} \pm SE$, n = 7.

Noradrenalin iB		Acetylcholin 10^{-5} molar iv	Acetylcholin 10^{-5} molar iv	Vergleich der Acetylcholin- werte
Δ Ruhewert- Maximum				
mäßig	mäßig		%	%
1	2		3	4
$25,18 \pm 3,49$	$6,17 \pm 1,33$	$26,17 \pm 6,84$		100
Polidocanol 0,025% 13 Minuten iv				
$8,85 \pm 1,73$	$0,00 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$	++	$0,00 \pm 0,00$
30 Minuten Pause				
$36,22 \pm 7,67$	$1,63 \pm 0,79$	$5,99 \pm 2,85$	+	$22,52 \pm 11,85$
30 Minuten Pause				
$50,78 \pm 10,30$	$1,64 \pm 0,82$	$5,56 \pm 2,76$	++	$19,47 \pm 9,77$

Spalte 1: Vortonus durch Noradrenalin

Spalte 2: Gefäßdilatation durch Acetylcholin; absolute Werte

Spalte 3: Gefäßdilatation durch Acetylcholin als % der durch Noradrenalin
erzeugten Vortonisierung (= 100%)

Spalte 4: Vergleich der Acetylvirkungen nach der Schädigung mit der vor
der Schädigung (= 100%) in %.

3.4. Einfluß der HRutoside auf die Gefäßtonisierung durch Noradrenalin

Diese Versuchsreihe war in zweierlei Hinsicht interessant. Zum einen diente sie dazu, eine Wirkung der Rutoside auf die Gefäßtonisierung zu objektivieren. Zum anderen sollte getestet werden, ob HRutoside sich an die Endotheloberfläche haften, dort einen Film bilden, welcher für den Gefäßschutz verantwortlich sein könnte und somit die lumennah vermuteten alpha-Rezeptoren bedeckt. Im zweiten Fall müßte die Gefäßreaktivität gegenüber intravasal verabreichtes Noradrenalin vermindert sein.

Das HRutosid wurde als 0,0625%-ige Lösung (in Krebslösung) 20 Minuten lang durch die Gefäße perfundiert. Vorher und nachher wurden die Anstiegsgeschwindigkeit und das Maximum einer durch intravasal verabreichtem Noradrenalin (10^{-6} molar, 10^{-5} molar) verursachten Gefäßtonisierung ermittelt. Die Reaktivität der Karotisabschnitte gegenüber dem Katecholamin vor und nach der Behandlung mit HRutosiden wurden miteinander verglichen.

Wie aus Tab. 21 zu erkennen ist, verursachten die HRutoside bei beiden Noradrenalinkonzentrationen eine Verstärkung sowohl der Anstiegsgeschwindigkeit als auch des Maximums der Gefäßtonisierung. Vergleicht man die absoluten Werte (in mmHg) beider gemessener Parameter miteinander (Tab. 21a), so ist die Anstiegsgeschwindigkeit bei der 10^{-5} molaren Noradrenalinlösung signifikant erhöht. Bei der Noradrenalinkonzentration von 10^{-6} mol/l lag die Erhöhung der Anstiegsgeschwindigkeit an der Grenze der Signifikanz ($p = 0,055$), während die Verstärkung des Maximums in keinem der Fälle signifikant war.

Doch kann man aus den gewonnenen Ergebnissen recht gut erkennen, daß die HRutosid-Behandlung keine Abschwächung der

Tab. 21: Einfluß einer intravasalen Perfusion von HR (62,5 mg/100 ml Krebslösung, 20 Minuten lang) auf die Gefäßtonisierung, hervorgerufen durch Noradrenalin. Vergleich der Noradrenalinwirkung vor und nach der HR-Applikation.

Tab. 21a: Vergleich der absoluten Werte in mmHg ($\bar{x} \pm SE$)

mmHg	Noradrenalin 10^{-6} molar iv	Noradrenalin 10^{-5} molar iv
	n = 9	n = 5
Ruhewert	8,90 $\pm$ 0,80	12,41 $\pm$ 2,66
Anstiegsgeschw.	1,80 $\pm$ 0,32	5,35 $\pm$ 1,49
Maximum	4,69 $\pm$ 0,49	12,39 $\pm$ 3,26
HR 0,0625% 20 Minuten iv		
Ruhewert	8,67 $\pm$ 0,96	10,89 $\pm$ 2,47
Anstiegsgeschw.	2,90 $\pm$ 0,52	6,87 $\pm$ 1,56 ⁺⁺
Maximum	6,33 $\pm$ 0,85	13,53 $\pm$ 2,98

Tab. 21b: Vergleich in Prozent; vorher = 100% ($\bar{x} \pm SE$)

%		
Anstiegsgeschw.	100	100
Maximum	100	100
HR 0,0625% 20 Minuten iv		
Anstiegsgeschw.	189,15 $\pm$ 28,98 ⁺	147,34 $\pm$ 19,94
Maximum	145,99 $\pm$ 23,97	115,59 $\pm$ 9,50

Gefäßreaktivität gegenüber intravasal verabreichtem Nor-adrenalin verursachte.

3.5. Beeinflussung der Gefäßwirkung von Adrenalin durch den α -Blocker Phentolamin

Phentolamin (Regitin^R) blockiert sowohl α_1 - als auch α_2 -Rezeptoren (Langner, Shepperson, 1982).

In diesem Versuchsabschnitt wurde die Wirkung dieses α -Blockers (10^{-5} mol/l) auf die gefäßtonisierende Wirkung von Adrenalin (5×10^{-6} mol/l), intra- und extravasal verabreicht, untersucht.

Nachdem die Reaktivität der Gefäßabschnitte gegenüber dem Katecholamin (Anstiegsgeschwindigkeit, Maximum der Gefäßtonisierung) getestet worden war, wurde die 10^{-5} molare Phentolaminlösung (in Krebslösung) bei einem Teil der Gefäße genau 10 Sekunden lang durch das Gefäßlumen perfundiert, bei einem anderen Teil für die gleiche Zeitdauer via Gefäßbad mit den Karotisabschnitten in Kontakt gebracht. Anschließend wurde das Adrenalin in gleicher Weise wie vor der Phentolamingabe noch einmal appliziert, und die jetzt erzeugte Gefäßtonisierung mit der vor der α -Blockade verglichen. Durch die kurze intravasale Applikationsdauer des Phentolamins (10 Sek.) sollte erreicht werden, daß der Blocker nur die lumennahen α -Rezeptoren blockiert, ohne weiter in die Gefäßwand einzudringen. Diesen Versuchen wurden die mit extravasaler Applikation des α -Blockers gegenübergestellt.

In eigenen Vorversuchen wurde ermittelt, daß die Wirkung der α -Blockade für die Dauer dieser Versuche anhält, in diesem Zeitraum also irreversibel ist.

Die Applikation des Blockers über die intimale Seite der Gefäßabschnitte vermochte die durch ebenfalls intravasal verabreichtes Adrenalin verursachte Gefäßreaktion deutlich und signifikant zu hemmen. Sowohl die Anstiegsgeschwindig-

keit als auch das Maximum der Gefäßtonisierung lagen nur noch etwa halb so hoch wie vor der α -Blockade. Bei extravasaler Applikation des Katecholamins waren diese beiden Parameter durch Phentolamin (intravasal) nur unwesentlich zu etwa 10% gehemmt (Tab. 22).

Eine extravasale Phentolamingabe schwächte Anstiegsgeschwindigkeit und Maximum der Gefäßtonisierung bei intravasaler Adrenalinapplikation nur um etwas mehr als 10% ab. Die Wirkung des Adrenalins bei extravasaler Verabreichung war dagegen um über 80% abgeschwächt (Tab. 23).

Es hemmte also Phentolamin, wenn es über das Organbad verabreicht wurde, die durch extravasales Adrenalin verursachte Gefäßtonisierung stärker als bei intraluminaler Phentolaminapplikation die durch intravasal verabreichtes Adrenalin hervorgerufene Tonisierung. Bei Applikation des Adrenalins über die der Phentolamingabe entgegengesetzten Seite der Gefäßwand war die Gefäßtonisierung gleichstark jeweils um etwa 10% abgeschwächt.

Tab. 22: Einfluß einer intravasalen Verabreichung des alpha-Blockers Phentolamin (10^{-5} molar, 10 Sekunden lang) auf durch intra- und extravasale Adrenalinapplikation hervorgerufene Gefäß-tonisierung.

Absolute Werte in mmHg und Werte in % (vor Phentolamin = 100%). $\bar{x} \pm SE$; n = 3

Adrenalin-konzentration jeweils 5×10^{-6} mol/l

mmHg	Adrenalin iv	Adrenalin iB
Ruhewert	$11,27 \pm 1,20$	$11,76 \pm 1,39$
Anstiegsgeschw.	$3,68 \pm 0,27$	$6,09 \pm 1,63$
Maximum	$14,75 \pm 2,69$	$21,70 \pm 5,08$
Phentolamin 10^{-5} mol/l 10 Sekunden iv		
Ruhewert	$11,98 \pm 1,41$	$11,62 \pm 1,37$
Anstiegsgeschw.	$1,72 \pm 0,10^{++}$	$5,04 \pm 1,40$
Maximum	$8,48 \pm 1,14^{+}$	$20,18 \pm 5,13$

%		
Anstiegsgeschw.	$100,00 \pm 0,00$	$100,00 \pm 0,00$
Maximum	$100,00 \pm 0,00$	$100,00 \pm 0,00$
Phentolamin 10^{-5} mol/l 10 Sekunden iv		
Anstiegsgeschw.	$47,03 \pm 2,20^{++}$	$87,69 \pm 18,63$
Maximum	$58,51 \pm 3,86^{+}$	$92,78 \pm 4,27$

Tab. 23: Einfluß einer extravasalen Verabreichung des alpha-Blockers Phentolamin (10^{-5} molar, 10 Sekunden lang) auf die durch intra- und extravasale Adrenalinapplikation hervorgerufene Gefäßtonisierung.

Absolute Werte in mmHg und Werte in % (vor Phentolamin = 100%). $\bar{x} \pm SE$; n = 3.

Adrenalinkonzentration jeweils 5×10^{-6} mol/l

mmHg	Adrenalin iv	Adrenalin iB
Ruhewert	$10,36 \pm 2,43$	$9,56 \pm 2,66$
Anstiegsgeschw.	$1,28 \pm 0,50$	$1,20 \pm 0,31$
Maximum	$6,14 \pm 1,42$	$7,51 \pm 2,60$

Phentolamin 10^{-5} mol/l 10 Sekunden iB

Ruhewert	$11,95 \pm 1,99$	$11,95 \pm 1,97$
Anstiegsgeschw.	$0,83 \pm 0,03$	$0,21 \pm 0,04^{+}$
Maximum	$5,15 \pm 0,73$	$0,88 \pm 0,12$

%		
Anstiegsgeschw.	$100,00 \pm 0,00$	$100,00 \pm 0,00$
Maximum	$100,00 \pm 0,00$	$100,00 \pm 0,00$

Phentolamin 10^{-5} mol/l 10 Sekunden iB

Anstiegsgeschw.	$87,69 \pm 31,88$	$18,82 \pm 3,67^{+++}$
Maximum	$87,49 \pm 10,11$	$15,43 \pm 6,60^{++}$

V. DISKUSSION

1. Gefäßschädigung durch Polidocanol

1.1. In vivo Versuche

Das Sklerosierungsmittel Polidocanol (Aethoxysklerol^R) schädigt die Wand von Blutgefäßen direkt, ohne eine entzündliche Reaktion hervorzurufen (Hammersen F., Hammersen E., 1983). Wie elektronenmikroskopische Untersuchungen zeigen (Hammersen F., Hammersen E., 1983), treten dabei im Polidocanolödem des Hinterlaufes von Katzen folgende Gefäßveränderungen auf:

- zahlreiche Gefäßverschlüsse durch Thrombozytenaggregate, z.T. mit örtlich begrenzten Auflösungen des endothelialen Zellverbandes. Durch vollständige thrombotische Verschlüsse größerer arterieller Gefäße können Kapillaren von der Zirkulation und damit auch vom Kontakt mit der Polidocanol-lösung ausgeschlossen werden;
- eine starke Abflachung des Endothels mit Ausbildung tiefer Invaginationen der luminalen Zellmembran. Neben einer Verminderung der Diffusionsstrecke wird dadurch auch die Endotheloberfläche vergrößert sowie die Bildung transendothelialer Kanäle als Folge von Vesikelfusionen erleichtert;
- zahlreiche lumenwärts gerichtete, blasige Endothelprotrusionen;
- Ödeme einzelner Endothelzellen, welche zu einem weitgehenden Verschuß der Kapillarlichtung führen können.

Diese Veränderungen in der Gefäßbahn stellen das strukturelle Korrelat für eine erhöhte Permeabilität großmolekularer Stoffe dar, so daß außer Wasser auch Eiweiß in das Gewebe übertritt. Es entsteht dadurch ein sogenanntes "morphologisches Ödem", welches vom rein "hämodynamischen" abzugrenzen ist (Felix, 1981). Da bei dem Symptomenkomplex

der chronischen Veneninsuffizienz, welche schließlich zum "dicken Bein" führt, eine entzündliche Komponente nur eine untergeordnete Rolle spielt, ist gerade dieses Ödemmodell zum Testen ödemprotektiver Pharmaka besonders gut geeignet.

Als quantitatives Äquivalent für das Ausmaß der Gefäßschädigung wurde die Differenz des Flüssigkeits- und Eiweißübertrittes aus den Blutgefäßen in das umgebende Gewebe zwischen dem geschädigten "Ödembein" und dem nicht geschädigten "Kontrollbein" verwendet.

Wie aus Tab. 1 deutlich hervorgeht, war bei den Kontrollversuchen sowohl der Flüssigkeits- als auch der Eiweißübertritt durch die Schädigung signifikant erhöht. Die Perfusion des "Ödembeines" mit 50 ml einer 0,025%-igen Polidocanolösung ist also gut dazu geeignet, ein experimentelles, nicht entzündliches, Ödem im Hinterlauf der Katze zu erzeugen, welches dann als Maßstab für die ödemprotektive Wirksamkeit von HRutosiden herangezogen werden kann. Allerdings ist dieses Ödem in der Muskulatur stärker ausgeprägt als in der Haut. Diese Tatsache wurde bei ähnlichem Versuchsaufbau schon von anderen Autoren beobachtet, und zwar sowohl beim Polidocanolödem (Felix, 1978) als auch bei Verwendung von anderen zur Gefäßschädigung verwendeten Substanzen wie Etacrynsäure (Felix et al., 1983) oder Thio-pental (Wagenbauer, 1979; Felix, 1978). Das spricht dafür, daß es sich bei der ungleichen Schädigung in Haut und Muskulatur nicht um ein Spezifikum des Polidocanols handelt. Es scheint vielmehr so zu sein, daß durch die schädigenden Substanzen gefäßaktive Amine freigesetzt werden, welche bei strömungskonstanter Perfusion eine Umverteilung des Perfusionsstromes herbeiführen, und zwar in der Haut eine Abnahme, in der Muskulatur eine Zunahme der Stromstärke (Wagenbauer, 1979; Remien, 1974). Dementsprechend würde ein relativ größerer Anteil des Polidocanols die Blutgefäße der Muskulatur durchströmen und diese stärker schädigen.

Zeitlicher Verlauf der Ödementstehung im Hinterlauf der Katze

Als Indikator für die Geschwindigkeit, mit der sich das Ödem entwickelte, diente der Flüssigkeitsübertritt in das Gewebe nach der Schädigung. Wie aus Tab. 4 hervorgeht, fand dieser zum großen Teil schon während der Schädigungsphase (= Beinspülung) statt. Dies kann man damit erklären, daß während der Perfusion der Gliedmaße mit Polidocanol- und physiologischer Kochsalzlösung dem hydrostatischen Druck der Kapillarflüssigkeit kein kolloidosmotischer entgegenwirkte, und daß während dieser Zeit schon eine Schädigung der Gefäßwand, anfangs jedoch noch keine Erhöhung des interstitiellen Gewebedruckes infolge der Ödembildung vorlag. Auch bei den Versuchen von Felix (1978) verliefen die Entstehung des Wasser- und Eiweißödems nicht parallel. Er vermutet, daß die Kapillaren zunächst für die niedrigmolekulare Flüssigkeit und dann erst für Proteine vermehrt durchlässig werden.

Während der Perfusionsphase nach der Endothelschädigung erfolgt der Flüssigkeitsübertritt zumindest während der ersten 35 Minuten praktisch linear und steigert sich in den letzten 10 Versuchsminuten sogar noch leicht (Abb. 6). Da mit zunehmendem Übertritt von Eiweiß und Flüssigkeit in das perivaskuläre Gewebe auch der hydrostatische Gewebedruck ansteigt (Cuyton et al., 1971), wäre eigentlich zu erwarten gewesen, daß mit zunehmender Ödembildung die Nettofiltration immer langsamer erfolgt. Daß dies, wie die Versuchsergebnisse zeigen, nicht der Fall ist, könnte eine Erklärung darin finden, daß

- die Endothelschädigung nach der Beinspülung noch nicht beendet ist. Es wäre möglich, daß während der Polidocanolperfusion biogene Amine freigesetzt werden, welche anschließend die Permeabilität noch weiter erhöhen;
- sich aufgrund der Endothelläsionen mit fortschreitender Zeit immer mehr Thrombozytenaggregate bilden, welche

bei strömungskonstanter Perfusion neben einer Erhöhung des Perfusionsdruckes (Abb. 8) zu einer Steigerung des hydrostatischen Kapillardruckes führen;

- ähnlich wie bei der Thrombozytenaggregation Ödeme der Endothelzellen im venösen Gefäßabschnitt eine Erhöhung des hydrostatischen Kapillardruckes nach sich ziehen;
- während der Perfusionsphase nach der Endothelschädigung der interstitielle Gewebedruck praktisch nicht mehr zunimmt. Wie aus Tab. 4 zu entnehmen ist, erhöhte sich der Flüssigkeitsgehalt der gesamten Hintergliedmaße nach der Schädigung um $14,03 \pm 1,75$ ml/100 g Gewebe, d.h., das Volumen steigerte sich um ca. 14%. Damit liegt der interstitielle hydrostatische Gewebedruck im von Guyton et al. (1971) empirisch ermittelten Bereich der größten "Compliance", in dem eine starke Zunahme des Volumens praktisch keine Erhöhung des hydrostatischen Gewebedruckes nach sich zieht. Die Hauptzunahme des hydrostatischen Druckes im Gewebe von etwa -6 mmHg auf 0 mmHg erfolgte nach der von Guyton et al. (1971) aufgestellten Druck-Volumen-Beziehung schon während der Beinspülung.

Zusammenfassend kann man sich die Entstehung des Ödems aus 3 Phasen bestehend denken:

1. Während der Schädigungsphase diffundiert die Flüssigkeit aufgrund des fehlenden intravasalen kolloidosmotischen Druckes durch die bereits geschädigte Kapillarmwand und führt schnell zu einer Auffüllung der interstitiellen Gewebespalten und Erhöhung des interstitiellen Gewebedruckes.
2. Zu Beginn der Blutperfusion unmittelbar nach der Schädigung erfolgt der Übertritt der niedrigmolekularen Flüssigkeit durch die geschädigte Gefäßwand vorwiegend aufgrund des zunehmenden hydrostatischen Druckes in den Blutgefäßen, welcher durch Thrombozytenaggregate und Ödeme der Endothelzellen hervorgerufen wird.

3. Gegen Ende der Blutperfusionsphase erhöhen nun zusätzlich noch die größeren übergetretenen Eiweißmoleküle den interstitiellen kolloidosmotischen Druck und führen nochmals zu einer Steigerung des Flüssigkeitsübertrittes.

1.2. In vitro Versuche

Bei den in vitro Versuchen wurde eine gleichstark konzentrierte Polidocanollösung verwendet wie bei den Katzenversuchen. Auch die Einwirkungszeit der schädigenden Substanz entsprach etwa der bei den Katzenversuchen. Da jedoch bei den Versuchen an den isolierten Gefäßabschnitten permeabilitätsbeeinflussende Faktoren wie Thrombozytenaggregation, Änderungen hydrostatischer und kolloidosmotischer Drucke sowie Umverteilungsphänomene im Perfusionsstrom ausgeschlossen werden können, wurde in diesen Versuchen allein der direkt an der Gefäßwand verursachte Schaden erfaßt.

Da bei diesen Versuchen aber nicht die Permeabilität der Gefäßwand, sondern deren Reaktivität gegenüber Katecholaminen als Maß für den Grad der Gefäßschädigung diente, ist eine Interpretation der Versuchsergebnisse nicht so einfach und eindeutig wie bei den Ergebnissen am Hinterlauf der Katze. So war der Ausgangspunkt dieser in vitro Versuche der, daß eine Schädigung der Gefäßintima die durch Katecholamine hervorgerufene Kontraktilität der Gefäße vermindert, und diese Abnahme der tonisierenden Wirkung von Noradrenalin dem Ausmaß der Intimaschädigung direkt proportional ist.

Wie die Ergebnisse zeigen (Tabelle 7, 8; Abbildung 9, 10), war eine 13-minütige Perfusion mit der 0,025%-igen Polidocanollösung dazu geeignet, eine signifikante Abschwächung dieser Gefäßkontraktilität zu erzeugen. Sie lag kurz nach der Schädigung je nach der verwendeten Konzentration der Katecholaminlösung bis zu über 90% niedriger als vorher.

Im Rahmen unserer Versuche stellte sich jedoch heraus, daß die geschädigten Gefäßabschnitte nach einer gewissen Phase verminderter Empfindlichkeit ihre Reaktivität gegenüber Katecholamingaben mit fortschreitender Versuchsdauer wiedererlangen, und daß diese dann sogar wesentlich höher als vor der Schädigung lag (Tab. 19).

Eine Erklärung hierfür könnte darin liegen, daß Polidocanol nicht nur das Endothel, sondern auch angrenzende Teile der Media schädigt, wobei der Schaden an den Muskulariszellen reversibel sein muß. Eine Schädigung der Muscularis zeigt sich auch darin, daß nach der Gefäßschädigung die Reaktivität der Gefäße nicht nur bei intravasaler, sondern in gleichem Ausmaß auch bei extravasaler Verabreichung des Katecholamins herabgesetzt ist (Tab. 7, 8; Abb. 9, 10). Im Laufe der Zeit erholten sich die Muskelzellen jedoch wieder. Bei noch bestehendem Endothelschaden würde diese innerste Gefäßschicht dann als Diffusionsbarriere wegfallen, und die Katecholamine hätten freieren Zugang zu den α -Rezeptoren der Gefäßmuskelzellen.

Da jedoch die Kontroll- und die Verumversuche stets nach dem gleichen Schema durchgeführt wurden, und somit die sich entsprechenden Reaktivitätsprüfungen immer im gleichen zeitlichen Abstand nach der Schädigung durchgeführt wurden, hat diese Regeneration der Carotisabschnitte keinen negativen Einfluß auf den Aussagewert der Ergebnisse hinsichtlich des Gefäßschutzes von HRutosiden.

2. Ödemprotektive Wirkung von HRutosiden am Hinterlauf der Katze

Bisher durchgeführte Versuche zur Ödemprotektiven Wirkung von HRutosiden gegenüber experimentell erzeugten Ödemen am Hinterlauf der Katze haben ergeben, daß ein Gefäßschutz sowohl durch intravenöse als auch perorale Applikationsform des Rutosids zu erzielen ist (Felix, 1978; Felix et al., 1983). Allerdings stellten sich im Rahmen dieser Un-

tersuchungen interessante Unterschiede hinsichtlich der Dosis-Wirkung-Beziehung bei den unterschiedlichen Applikationsarten heraus. So wirkten im Akutversuch (d.h., das Medikament wurde erst kurz vor der Gefäßschädigung verabreicht) 50 mg/kg HRutoside bei intravenöser Verabreichung statistisch signifikant ödemprotektiv (Felix, 1978). Versuche mit niedrigen parenteral verabreichten Dosen HRutosiden zeigten, daß im Akutversuch mindestens 20 mg/kg injiziert werden müssen, um eine statistisch signifikante, ödemprotektive Wirkung zu erzielen. Eine die gleiche Blutkonzentration erreichende, einmalige perorale Dosis von 200 mg/kg HRutosiden (bei einer angenommenen Absorptionsquote von 10%) erzielte einen wesentlich besseren Gefäßschutz als die entsprechende Dosis bei parenteraler Verabreichung. Und überraschenderweise wirkte eine zehnfach niedrigere Dosis (20 mg/kg), jedoch 4 Tage lang per os verabreicht, ebenso gut ödemprotektiv wie die höhere (200 mg/kg), nur einmal peroral applizierte Menge an HRutosiden (Felix et al., 1983).

Diese Ergebnisse waren der Anlaß dazu, die Wirksamkeit noch niedrigerer Dosen des HRutosids bei chronischer, peroraler Applikation über 14 Tage zu untersuchen.

Wie aus Tab.3 und Abb. 4, 5 hervorgeht, erfüllte sich jedoch die Hoffnung, schon mit den niedrigen Mengen von HRutosiden (5 bzw. 10 mg/kg/Tag) eine signifikante ödemprotektive Wirkung zu erzielen, nicht.

Was den E i w e i ß g e h a l t der Gewebeproben betrifft, läßt sich zwar eine deutliche Abhängigkeit zwischen der verabreichten Menge des HRutosids und der ödemprotektiven Wirkung erkennen (Tab. 3, Abb. 5), ein signifikanter Gefäßschutz ließ sich allerdings erst mit der höchsten untersuchten Dosis von 20 mg/kg HRutosiden erzielen. Daraus kann geschlossen werden, daß die vermutete kumulative Wirkung kleinerer HRutosid-Mengen, wenn sie über einen längeren

Zeitraum verabreicht werden, nicht stattfindet, und daß bei einem Dosierungsintervall von 24 Stunden nach 4 Tagen die HRutosid-Konzentration im Organismus die zur Erhaltungsdosis gehörende Höhe erreicht hat (Felix, 1981; Felix et al., 1983). Dies wird auch daraus deutlich, daß eine perorale Verabreichung von 20 mg/kg/Tag über 14 Tage gegenüber einem Behandlungszeitraum von 4 Tagen (Felix et al., 1983; eigene Versuche) keine Verbesserung der ödemprotektiven Wirkung erbringt.

Es bestätigt sich also der schon von Felix et al. (1983) erhobene Befund, daß 20 mg/kg/Tag HRutoside die niedrigste Dosis sind, welche den Plasmaproteingehalt in der Ödemflüssigkeit gegenüber den Kontrollversuchen signifikant erniedrigen.

Der Übertritt von Ö d e m w a s s e r konnte im Gegensatz zur Eiweißpermeabilität durch HRutoside nicht so deutlich beeinflußt werden. 5 und 10 mg/kg/Tag HRutoside hatten praktisch keinen Einfluß auf den gesamten Flüssigkeitsübertritt (Tab. 3, 4; Abb. 4). Erst mit 20 mg/kg/Tag tritt eine ödemprotektive Wirkung von HRutosiden gegenüber dem Flüssigkeitsaustritt aus den Gefäßen auf. Bei chronischer Applikation dieser Dosis wird die gesamte Nettofiltration sogar signifikant gehemmt (Tab. 4). Dabei ist die ödemprotektive Wirkung in der Muskulatur stärker als in der Haut (Tab. 3; Abb. 4).

Unterscheidet man zwischen der Phase der Endothelschädigung (Beinspülung) und der sich anschließenden Phase mit Blutperfusion, so kann man sowohl während der Polidocanolperfusion als auch der Spülung mit physiologischer Kochsalzlösung keine Beziehung zwischen der verabreichten HRutosid-Menge und dem Flüssigkeitsübertritt feststellen (Tab. 4). Anders verhält es sich bei der anschließenden Perfusion mit Blut. Hier nimmt die Nettoflüssigkeitsfiltration bei 14-tägiger Vorbehandlung mit steigender HRutosid-Dosis ab (Tab. 4, 5; Abb. 6). Da auch der Eiweißübertritt mit zunehmender HRutosid-Dosis abnimmt, kann man

daraus für diesen letzten Versuchsabschnitt eine Beziehung zwischen Eiweiß- und Flüssigkeitsübertritt ableiten. Daß das Wasser- und Eiweißödem nicht parallel entstehen, erkannte schon Felix (1978). Seine Vermutung, daß die Kapillaren zunächst für niedrigmolekulare Flüssigkeit und dann erst für Proteine vermehrt durchlässig werden, stehen in gutem Einklang mit den im Rahmen unserer Arbeit erzielten Ergebnissen. Doch während bei Felix (1978) der größere Anteil der Flüssigkeit erst unmittelbar nach der Beinspülung in das Gewebe übertrat, geschah dies bei unseren Versuchen schon während der Beinspülung.

Daß HRutoside den Flüssigkeitsübertritt nicht direkt im Sinne einer Abdichtung der Gefäßwand durch filmartige Anlagerung auf das Endothel beeinflussen, kann man daran erkennen, daß der in der Endothelschädigungsphase übertretende größere Anteil des Ödemwassers durch eine Vorbehandlung mit HRutosiden praktisch nicht beeinflusst wird.

Der geringere Flüssigkeitsübertritt bei 20 mg/kg/Tag kommt also sehr wahrscheinlich über eine Hemmung des Eiweißübertrittes indirekt zustande.

3. Blutdruck, Perfusionsdruck

Während des Versuchsablaufes fiel der arterielle B l u t - d r u c k, abgesehen von der Phase der Endothelschädigung, kontinuierlich ab. Da dies sowohl bei den Kontroll- als auch bei den Verumversuchen der Fall war, und außerdem zu Versuchsbeginn die Blutdruckwerte im physiologischen Bereich lagen, kann ein Einfluß der Rutoside sowie der Chloralosenarkose auf dieses Verhalten des Blutdruckes ausgeschlossen werden. Daß während der Beinspülung, bei welcher die Rollpumpe ausgeschaltet war, dieser Blutdruckabfall stagnierte, läßt vermuten, daß ein Zusammenhang zwischen dem Durchfließen extrakorporaler Strecken mit Blut und dem Druckabfall besteht. Da diese extrakorporalen Strecken bei Versuchsbe-

ginn mit physiologischer Kochsalzlösung gefüllt waren, wurde das Kreislaufvolumen der Katze während des Versuches praktisch nicht verändert. Aber es ist denkbar, daß zum einen durch die Verdünnung des Katzenblutes durch die Kochsalzlösung sowie durch eine Zerstörung der roten Blutkörperchen durch die Rollpumpe im Verlaufe des Versuches eine Blutacidose entsteht, die über eine Erweiterung der Widerstandsgefäße für diesen Blutdruckabfall verantwortlich ist.

Für den Anstieg des **P e r f u s i o n s d r u c k e s** können mehrere Faktoren eine Rolle spielen.

So stellte Abdel-Sayed (1970) fest, daß eine Blutabkühlung eine Steigerung des arteriellen Perfusionsdruckes nach sich zieht. Zusätzlich hierzu sind sehr wahrscheinlich nach der Endothelschädigung noch eine vermehrte Bildung von Thrombozytenaggregaten, ein das Gefäßlumen einengendes Gefäßwandödem (Hammersen, Hammersen, 1983) sowie eine Zunahme des interstitiellen Gewebedruckes infolge des Ödems für den steilen Anstieg des Perfusionsstromes verantwortlich.

4. Gefäßschützende Wirkung von HRutosiden an isolierten Meerschweinchenkarotiden

Bringt man die Ergebnisse dieser in vitro Versuche (Tab. 12; Abb. 9, 10) auf einen Nenner, so kann man sagen, daß sich durch keine der angewendeten Applikationsformen ein signifikanter Gefäßschutz erkennen läßt.

Die bei diesen Versuchen verwendete HRutosid-Konzentration (62,5 mg/100 ml Krebslösung) entspricht, wie schon erwähnt, einer Blutkonzentration nach intravenöser Applikation von 50 mg/kg HRutosiden und liegt mit $8,3 \times 10^{-4}$ mol/l nahe der früher schon ermittelten "optimalen Konzentration" (7×10^{-4} mol/l) für in vitro Versuche (Felix et al., 1983). Bei diesen vorher schon durchgeführten Versuchen war sowohl bei in vivo Versuchen bei der Katze als auch bei in vitro Versuchen an Pfortader und Aorta von Ratten ein signifikanter Gefäßschutz vorhanden. Allerdings wurden bei diesen Experi-

menten an den isolierten Gefäßen spiralige Streifen verwendet. Die Gefäßwand wurde im Organbad also von allen Seiten mit der HRutosid-Lösung umspült, während in unseren in vitro Versuchen die Gefäßabschnitte mit der HRutosid-Lösung perfundiert wurden, d.h., daß HRutoside kamen nur über das Endothel mit der Gefäßwand in Kontakt.

Daß bei den in vitro Versuchen von Felix et al. (1983) an den spiraligen Streifen von Pfortader und Aorta der Ratte ein schützender Effekt durch die Rutoside nachweisbar ist, bei unseren perfundierten Karotisabschnitten jedoch nicht, könnte darin liegen,

- daß bei Felix et al. (1983) die HRutoside direkt mit den Muskelzellen der Gefäßwand in Kontakt kamen und daß die HRutoside ihre Schutzwirkung nicht am Endothel sondern an der Muskelzelle direkt ausüben. Werden die Gefäße aber, wie bei unseren Versuchen, 20 Minuten lang mit der HRutosid-Lösung perfundiert, so reicht womöglich diese Zeit nicht aus, daß die HRutoside via Endothel bis zur Tunica muscularis vordringen.

Denkbar wäre auch, daß die HRutoside über einen aktiven Transportmechanismus durch das Endothel geschleußt werden, dieser aber bei den isolierten Gefäßabschnitten nicht mehr funktioniert. Wäre dies der Fall, könnte man aber eine positive Wirkung der HRutoside in den Versuchen erwarten, bei denen das Rutosid vor Versuchsbeginn dem noch lebenden Tier verabreicht wurde.

- daß die in unseren Versuchen verwendete Polidocanol-Lösung (0,025% im Gegensatz zu 0,0015% bei Felix et al, 1983) zu stark ist. So wäre es durchaus denkbar, daß die HRutoside imstande sind, gegenüber einer geringgradigeren Schädigung noch eine Schutzfunktion auszuüben, diese aber bei Schädigung mit 0,025%-iger Polidocanol-Lösung nicht mehr ausreicht.

Da bei der chronischen Veneninsuffizienz des Menschen im Vergleich zu den Tierversuchen wesentlich weniger aggres-

sive Vorgänge für die Gefäßschädigung verantwortlich sind (Felix et al., 1983), wäre es interessant, in weiterführenden Versuchen zu prüfen, ob wirklich die unterschiedliche Stärke der Gefäßschädigung für die Diskrepanz zwischen den Versuchen von Felix et al. (1983) und den unserigen verantwortlich ist.

5. Zum Wirkungsmechanismus der Hydroxyethylrutoside

Im Laufe der letzten Jahre wurde von vielen verschiedenen Autoren versucht, die gefäßschützende Wirkungsweise der Hydroxyethylrutoside zu erklären. Die in diesen Untersuchungen gefundenen Ergebnisse sind in dem Abschnitt "Schrifttum" zusammengefaßt. Sie zeigen, daß das ödemprotektive Wirkungsprinzip sehr wahrscheinlich aus einem Zusammenspiel mehrerer unterschiedlicher Faktoren resultiert.

Die im Rahmen unserer Untersuchungen erzielten Ergebnisse sprechen dafür, daß vitale Prozesse für die gefäßschützenden Eigenschaften von HRutosiden eine wichtige Rolle spielen, da im Gegensatz zu den in vivo Versuchen am Hinterlauf der Katze bei den in vitro Versuchen kein Hinweis für einen Endothelschutz gefunden werden konnte. So erscheint es unwahrscheinlich, daß die permeabilitätsmindernde Wirkung von HRutosiden allein darauf beruht, daß diese Substanz die Gefäßinnenfläche in Form eines Schutzfilmes auskleidet und somit mehr oder weniger rein mechanisch den Durchtritt von Molekülen durch die Gefäßwand vermindert. Dieser Befund wird noch dadurch erhärtet, daß eine 20-minütige Perfusion der Karotisabschnitte mit einer 0,0025%-igen HRutosid-Lösung deren Reaktivität gegenüber intravasale Katecholamingabe nicht, wie dies bei Bildung eines "Schutzfilmes" zu erwarten wäre, verringert, sondern eher die Tendenz hat, die Kontraktilität zu erhöhen (Tab. 21). Dies könnte die Folge einer Hemmung der Katechol-O-Methyltrans-

ferase sein (Gugler, Dengler, 1973; Kroneberg et al., 1961), wobei dann als Folge davon über verstärkte Katecholaminwirkung auf die Widerstandsgefäße eine den kapillären Filtrationsdruck mindernde Kreislaufwirkung im lebenden Organismus denkbar wäre (Remien, Felix, 1974). Die Verstärkung der Katecholaminwirkung kann auch eine Verminderung der Anzahl durchströmter Kapillaren und dadurch eine Verminderung der Stoffaustauschfläche nach sich ziehen (Ambrose, DeEds, 1949; Bohr et al., 1949; Rázgová et al., 1971; Rotzocil et al., 1971).

Zusätzlich zu dieser indirekten Kreislaufwirkung spielen sehr wahrscheinlich noch die folgenden Faktoren eine Rolle bei der ödemprotektiven Wirkung der Hydroxyethylrutoside:

- Hemmung der Wirkung biogener Amine und Kinine (Felix, 1970; Lecomte, Van Cauwenberger, 1974; Gabor, 1972, 1978; Van Cauwenberger, Franchimont, 1967). Mit der Hemmung dieser gefäßaktiven Substanzen wirken HRutoside sowohl einer Erhöhung der Durchströmung kleinster Gefäße als auch einer Steigerung der Gefäßpermeabilität entgegen.
- Verbesserung der Fließeigenschaften des Blutes (Schmid-Schönbein, 1975, 1978; Kieswetter et al., 1983; Bächmann, 1983), wobei hierfür vor allem eine Hemmung der Aggregation von Thrombozyten und Erythrozyten sowie eine Verbesserung der Verformbarkeit der Erythrozyten verantwortlich sind (Schmid-Schönbein, 1975, 1978).
- Dichtungseffekt an der terminalen Strombahn. Hierbei kommen als Angriffspunkte sowohl die Endothelporen (Felix, 1970, 1972), die Interzellularräume (Hladovec, 1977; Casley-Smith, 1976) als auch die Basalmembran oder das interstitielle Bindegewebe (Casley-Smith, 1976) in Frage.
- Allgemeiner protektiver Membraneffekt (Hammersen, 1978, 1983). Dieser membranschützende Effekt der Rutoside kann sich auf vielerlei Weise ödemprotektiv auswirken. Zum einen kann die Ausschüttung lysosomaler Enzyme vermindert

werden, zum anderen können dadurch membrangebundene Enzymsysteme geschützt werden, und schließlich kann sich dieser schützende Membraneffekt auch direkt auf die Endothelzellen auswirken.

Ob HRutoside selbst oder ein Metabolit für die ödemprotektive Wirkung verantwortlich sind, ist noch nicht eindeutig geklärt. Die Tatsache jedoch, daß ein ödemprotektiver Effekt bei unseren Versuchen nur am lebenden Tier zu verzeichnen war, läßt es durchaus als möglich erscheinen, daß ein Metabolit hauptverantwortlich für die schützende Wirkung der HRutoside ist.

6. Zur Reaktivität der Karotisabschnitte gegenüber Katecholaminen mit besonderer Berücksichtigung der Verteilung von α -Rezeptoren innerhalb der Gefäßwand

6.1. Reaktivität gegenüber Katecholaminen

Bei den in vitro Versuchen zur gefäßschützenden Wirkung von HRutosiden war aufgefallen, daß die Karotisabschnitte bei Verabreichung einer Katecholaminlösung über die intimale Gefäßwandseite anders reagierten als bei Applikation einer gleichstarken Lösung über die extraluminale Seite. Wie aus Tab. 13, 14 zu entnehmen ist, erzeugen niedrige NoradrenalinKonzentrationen (10^{-7} bzw. 10^{-6} mol/l) bei intravasaler Gabe einen stärkeren Gefäßtonus als bei extravasaler. Bei einer Katecholaminkonzentration von 5×10^{-6} mol/l sind beide Gefäßreaktionen etwa gleich stark, während die 10^{-5} molare Lösung die Karotisabschnitte bei Verabreichung über das Gefäßbad stärker tonisiert als bei der Gefäßperfusion, also bei intravasaler Applikation. Es nimmt also mit zunehmender Konzentration der Katecholaminlösung die Reaktionsstärke der Gefäße bei extravasaler Gabe gegenüber der bei intravasaler Applikation zu.

Eine unterschiedliche Empfindlichkeit von Gefäßabschnitten der Zentralarterie des Kaninchenohres gegenüber Noradrenalingaben über die interne und externe Gefäßseite wiesen bei ähnlichem Versuchsaufbau schon De la Lande et al. (1967) nach. Noradrenalinkonzentrationen zwischen 0,005 und 5 $\mu\text{g/l}$ konnten bei Verabreichung über die adventitielle Gefäßwandseite keine so starke Gefäßtonisierung hervorrufen wie bei der Applikation via Intima. Die Autoren machten für diese unterschiedliche Empfindlichkeit die sympathische Innervation der Gefäßwand verantwortlich und zwar in dem Sinne, daß Noradrenalin bei extraluminaler Applikation von den Noradrenalin speichern der zwischen Adventitia und Tunica muscularis liegenden Nervenendigungen aufgenommen wird, und somit die Katecholaminkonzentration, welche die Gefäßmuskulatur erreicht, geringer ist. Da Serotonin- und Histaminreaktionen von der Applikationsart kaum beeinflusst werden, schließen De la Lande et al. (1967) Diffusionsbarrieren in der Gefäßwand als Ursache für die unterschiedliche Empfindlichkeit aus.

Die Tatsache, daß bei unseren Versuchen das Noradrenalin so lange verabreicht wurde bis die Gefäßtonisierung ihr Maximum über längere Zeit aufrecht erhielt, spricht gegen die Theorie von De la Lande et al. (1967). Da die Noradrenalin Speicher keine unbegrenzte Aufnahmekapazität haben können, müßte die extravasale Reaktion zumindest nach einer gewissen Zeit die Stärke der intravasalen Reaktion erreichen. Auch die Umkehr der Reaktivität der Gefäßabschnitte zugunsten der extravasalen Reaktion mit zunehmender Noradrenalinkonzentration spricht dagegen, daß die Aufnahme von Noradrenalin in die Vesikel der Hauptgrund für die unterschiedliche Empfindlichkeit der Gefäße ist.

Sinnvoller erscheint es zu sein, für das unterschiedliche Verhalten der Gefäßabschnitte gegen intra- und extraluminale Noradrenalingaben die Lokalisation der α_1 - und α_2 -Rezeptoren innerhalb der Gefäßwand verantwortlich zu ma-

chen. Ziel unserer Arbeit war es, Hinweise darüber zu erhalten, wie diese α -Rezeptoren in der Gefäßwand verteilt sind und vor allem, ob möglicherweise sogar α -Rezeptoren direkt auf dem Endothel lokalisiert sind.

Experimente mit verschiedenen α_1 - und α_2 -Blockern führten Langner und Shepperson (1982) zu dem Schluß, daß diese beiden Gruppen von α -Rezeptoren ungleich in der Gefäßwand verteilt sind. Sie vermuten, daß die α_2 -Rezeptoren vorwiegend an der nicht innervierten Grenze zwischen Intima und Media lokalisiert sind, während sich die α_1 -Rezeptoren mehr in dem innervierten Gebiet zwischen Media und Adventitia konzentrieren. Bedenkt man weiterhin, daß

- α_2 -Rezeptoren eine niedrigere Reizschwelle gegenüber Katecholamine besitzen als α_1 -Rezeptoren, und bei höheren Konzentrationen des Transmitters der Effekt der α_1 -Rezeptoren dominiert (Flavahan et al., 1984; Medgett, Langner, 1983; McGrath et al., 1982; Drew, Whiting, 1979)
 - die extrasynaptisch lokalisierten postsynaptischen α_2 -Rezeptoren vorwiegend von den im Blut zirkulierenden Katecholaminen erregt werden, die intrasynaptisch liegenden postsynaptischen α_1 -Rezeptoren dagegen hauptsächlich Reaktionen auf neuronal freigesetztes Noradrenalin vermitteln (Ariens, Simonis, 1983; Langner, Shepperson, 1982)
- kann man sich das unterschiedliche Verhalten der Karotisabschnitte so erklären:

Niedrige Katecholaminkonzentrationen können nur die α_2 -Rezeptoren erregen. Da diese nahe der luminalen Gefäßwandseite lokalisiert sind, erzeugt eine niedrige NoradrenalinKonzentration bei intravasaler Applikation eine stärkere Gefäßtonisierung als bei extravasaler Verabreichung. Hohe Konzentrationen dagegen sprechen auch die vorwiegend an der extraluminalen Seite gelegenen α_1 -Rezeptoren an. Da deren Aktivierung eine stärkere Gefäßtonisierung hervorruft, verursacht die 10^{-5} molare Noradrenalinlösung bei Applikation über das Gefäßbad eine stärkere Tonisierung als bei der Per-

fusion durch das Gefäßlumen.

Diese Erklärung setzt allerdings voraus, daß die Katecholaminlösung die Gefäßwand nicht unbehindert durchdringen kann. Daß dies nicht der Fall ist, zeigen die Ergebnisse in Tab. 14. Eine über eine Gefäßwandseite durch Noradrenalin erzeugte Tonisierung läßt sich noch verstärken, wenn man das Gefäß zusätzlich mit einer gleichstarken Lösung des Katecholamins über die entgegengesetzte Seite in Kontakt bringt.

Es wäre aber auch denkbar, daß die α -Rezeptoren nicht auf den lumennahen Zellen der Tunica muscularis sitzen, sondern direkt auf dem Endothel lokalisiert sind. Hinweise für das Vorhandensein von solchen α -Endothelrezeptoren finden sich bei Burri und Weibel (1968), Bevan und Duckles (1975), Pascual und Bevan (1980), sowie Karnushina et al. (1982).

Um dieser Frage nach den Endothelrezeptoren nachzugehen, wurde in weiterführenden Experimenten versucht, diese hypothetischen Endothelrezeptoren mit Polidocanol zu schädigen, mit einem HRutosid-Film zu bedecken oder mit einem α -Blocker zu blockieren, um den Einfluß dieser Maßnahmen auf die Reaktivität der Karotisabschnitte zu untersuchen.

6.2. Einfluß einer Endothelschädigung auf die Reaktivität der Karotisabschnitte gegenüber Noradrenalin

Eine Schädigung der intimalen Gefäßwandseite mit Polidocanol hätte erwarten lassen können, daß bei der Existenz von α -Endothelrezeptoren die Tonisierung der Karotisabschnitte nach intravasaler Applikation von Noradrenalin stärker abgeschwächt würde als nach extravasaler Verabreichung des Katecholamins. Wie unsere Versuche gezeigt haben, ist aber eher das Gegenteil der Fall (Tab. 16). Eine mögliche Erklärung für das Verhalten der Gefäßabschnitte nach der Schädigung

gung könnte darin liegen, daß Polidocanol nicht nur die Endothelschicht, sondern auch die Tunica muscularis schädigt. Diese Schädigung der Muskularis ist sehr wahrscheinlich reversibel. Denn betrachtet man das Verhalten der Gefäßabschnitte gegenüber Noradrenalin über einen längeren Zeitraum nach der Schädigung, erhalten die Gefäße nicht nur ihre volle Kontraktilität zurück, die Tonisierung erreicht sogar wesentlich höhere Werte als vor der Schädigung (Tab. 19). Dieses Verhalten kann folgendermaßen interpretiert werden:

- Ein großer Teil der Endothelauskleidung der Gefäße ist irreversibel geschädigt.

Dies kann man daran erkennen, daß die Karotisabschnitte auf intravasal verabreichtes Acetylcholin, dessen dilatierende Wirkung ein intaktes Endothel zur Voraussetzung hat (Furchgott, 1981), fast nicht mehr ansprechen (Tab. 20).

- Die inneren Schichten der Tunica muscularis sind nur leicht und reversibel geschädigt. Diese Schädigung findet ihren Ausdruck in einer verminderten Gefäßtonisierung bei Katecholamingaben unmittelbar nach der Schädigung.
- Nach der Regeneration der Muskelzellen kann das Noradrenalin bei intravasaler Applikation aufgrund der geschädigten Endothelschicht direkt mit den α -Rezeptoren der Tunica muscularis in Kontakt treten, muß vorher also nicht erst durch das Endothel diffundieren.

Dies alles schließt jedoch die Existenz von α -Endothelrezeptoren nicht aus. Es scheint vielmehr so zu sein, daß, wenn solche Rezeptoren vorhanden sind, diese ihre Funktion nur bei niedrigen Katecholaminkonzentrationen ausüben, während bei höheren Konzentrationen diese Funktion dann durch die α -Rezeptoren der Muskulatur überlagert wird. Soviel kann aber über diese Endothelrezeptoren mit einiger Sicherheit gesagt werden: sind α -Rezeptoren auf dem Endothel vor-

handen, muß es sich um welche vom α_2 -Typ handeln.

Eine solche Verteilung der α -Rezeptoren wäre auch sinnvoll, denn die α -Rezeptoren auf dem Endothel wären ja primär dazu da, von im Blut zirkulierenden Katecholaminen erregt zu werden. Und deren Konzentration im Blut liegt niedrig.

6.3. Zum Versuch, die lumennahen Rezeptoren mit HRutosiden zu bedecken

Der Versuch, das Endothel und damit auch die lumennahen Rezeptoren mit einem feinen Film von HRutosiden zu bedecken und in Folge davon eine Änderung der Reaktivität der Karotisabschnitte in dem Sinne zu erhalten, daß die Empfindlichkeit der Blutgefäße gegenüber intravasaler Noradrenalinapplikation geringer wird, brachte nicht das erwartete Ergebnis. Wäre die Annahme, daß HRutoside als Filmschicht das Endothel auskleiden, zugetroffen, hätte zumindest die Anstiegsgeschwindigkeit der Gefäßtonisierung verringert sein müssen. Daß jedoch eher das Gegenteil der Fall war (Tab. 21), bestätigt die Vermutung aus den in vitro Versuchen zum Gefäßschutz, daß der gefäßschützende Mechanismus der HRutoside ein anderer sein muß als das mechanische Abdecken der Gefäßinnenseite.

Die leichte Zunahme der Reaktivität der Karotisabschnitte beruht wohl auf der die Gefäßwirkung der Katecholamine verstärkenden Wirkung von HRutosiden (Wilson, DeEds, 1949; Kroneberg et al., 1961; Crimson et al., 1951; Ambrose, DeEds, 1949), die möglicherweise auf einer Hemmung der Katechol-O-Methyltransferase beruht (Gugler, Dengler, 1973; Kroneberg et al., 1961).

6.4. Blockade der lumennahen Rezeptoren durch α -Blocker

Wenn die zu suchenden lumennahen α -Rezeptoren alleine für die Gefäßtonisierung bei intravasaler Katecholamingabe

verantwortlich wären, müßte bei deren Blockade durch den α -Blocker Phentolamin die tonisierende Katecholaminwirkung bei intravasaler Gabe völlig gehemmt sein. Um das zu untersuchen, wurde eine 10^{-5} molare Lösung des Blockers für 10 Sekunden durch das Gefäßlumen perfundiert. Die kurze Zeitdauer dieser Perfusion sollte eine Diffusion des Phentolamins in die tieferen Gefäßwandschichten verhindern.

Wie aus Tab. 22 zu entnehmen ist, wurden die Anstiegsgeschwindigkeit und das Maximum der Gefäßtonisierung zwar signifikant, jedoch nicht völlig gehemmt. Es werden die Muskelzellen der Gefäßwand bei intravasaler Gabe des Katecholamins also noch durch α -Rezeptoren aktiviert, die nicht auf dem Endothel, sondern in der Tunica muscularis sitzen. Das Adrenalin dringt während der Gefäßperfusion bis zu diesen Rezeptoren vor, ohne jedoch die gesamte Gefäßwand zu durchdringen. Denn wäre dies der Fall, müßte bei intra- und extravasaler Applikation der gleichen Konzentration des Katecholamins alle nicht blockierten α -Rezeptoren aktiviert und somit bei beiden Applikationsarten eine gleichstarke maximale Gefäßtonisierung auftreten.

Interessant ist das unterschiedliche Verhalten der Gefäßabschnitte gegenüber Adrenalin bei gleichlanger Applikationsdauer des α -Blockers über die intimale bzw. adventitielle Gefäßwandseite (Tab. 22, 23). Verabreicht man das Phentolamin über das Gefäßbad, so ist die gefäßtonisierende Wirkung des über das Bad verabreichten Adrenalins stärker gehemmt als umgekehrt bei Applikation des α -Blockers und anschließender Katecholamingabe über die intimale Seite. Hierfür könnte wiederum die Diffusion des α -Blockers hemmende Barrierefunktion des Endothels verantwortlich sein. Wahrscheinlich dringt der α -Blocker während der Applikationsdauer von 10 Sekunden bei Gabe über die äußere Gefäßwandseite tiefer in die Gefäßwand ein als bei Verabreichung via Intima.

Es kann also auch bei dieser Versuchsreihe die Anwesenheit von α -Endothelrezeptoren nicht ausgeschlossen werden. Ausgeschlossen werden kann aber, daß diese, falls vorhanden, alleine für eine Gefäßtonisierung bei intravasaler Katecholamingabe verantwortlich sind.

ZUSAMMENFASSUNG

Um eine ödemprotektive Wirkung durch O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside bei peroraler Applikation zu erzielen, sind relativ hohe Einzeldosierungen notwendig. Im Katzenversuch waren eine tägliche Dosis von 20 mg/kg, über 4 Tage verabreicht, bisher die niedrigste Dosierung, mit welcher eine ödemprotektive Wirkung erreicht werden konnte.

An perfundierten Hinterextremitäten narkotisierter Katzen wurde getestet, ob durch niedrigere orale Dosierungen ein ödemprotektiver Effekt erzielt werden kann, wenn die O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside über einen längeren Zeitraum verabreicht werden. Hierzu wurden die Katzen über einen Zeitraum von 14 Tagen mit täglichen Dosen von 5 bis 20 mg/kg vorbehandelt.

Parallel dazu wurde die gefäßschützende Wirkung der Rutoside bei in vitro Versuchen an isolierten Meerschweinchenkarotiden untersucht. Hierzu wurden die Gefäßsegmente in einem Organbad fixiert und strömungskonstant perfundiert.

Während bei den Katzenversuchen die aus dem Gefäßlumen in das umgebende Gewebe übergetretene Eiweiß- und Flüssigkeitsmenge als Maß für die ödemprotektive Wirksamkeit der Rutoside diente, wurde bei den in vitro Versuchen die Reaktivität der Karotisabschnitte gegenüber gefäßaktiven Substanzen (Katecholamine) als Indikator für das Ausmaß des Gefäßschutzes herangezogen.

Sowohl bei den in vivo als auch bei den in vitro Versuchen wurde die Gefäßintima durch eine 0,025%-ige Polidocanollösung geschädigt.

Der Versuchsaufbau bei den in vitro Versuchen machte es möglich, neben dem gefäßschützenden Effekt der O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside auch den Einfluß der Katecholamine, der O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside, des Polidocanols und des

α -Blockers Phentolamin auf die Reaktivität der Karotisabschnitte bei intra- und extravasalen Katecholaminapplikationen zu untersuchen und hieraus möglicherweise Hinweise über die Verteilung von α -Rezeptoren innerhalb der Gefäßwand zu erhalten. Besonderes Augenmerk wurde dabei auf die Existenz solcher α -Rezeptoren auf dem Gefäßendothel gelegt.

Bei den Ödemversuchen an den Katzen konnte mit den niedrigen HRutosid-Tagesdosen von 5 und 10 mg/kg kein ödemprotektiver Effekt erzielt werden. Erst mit 20 mg/kg wird die protektive Wirkung statistisch signifikant. Allerdings bringt auch bei dieser Dosierung eine 14-tägige Vorbehandlung gegenüber der von 4 Tagen keine nennenswerten Vorteile.

Diese gefäßschützende Wirkung konnte bei den in vitro Versuchen an den Meerschweinchenkarotiden nicht nachvollzogen werden.

Allerdings erhöhten intravasale Gaben von O-(β -Hydroxyethyl)-rutosiden die Empfindlichkeit ungeschädigter Gefäßabschnitte gegenüber Noradrenalin leicht.

Die Existenz von α -Rezeptoren auf dem Gefäßendothel konnte nicht eindeutig nachgewiesen werden. Die Versuche, diese hypothetischen Endothelrezeptoren mit einem "Schutzfilm" von HRutosiden zu bedecken, durch Polidocanol zu schädigen oder mit dem α -Blocker Phentolamin zu blockieren, erbrachten nicht das erhoffte Ergebnis, durch diese Maßnahmen die Reaktivität der Karotissegmente so zu beeinflussen, daß der Gefäßtonus sich bei intravasaler Applikation von Noradrenalin stärker vermindert als bei extravasaler Gabe des Katecholamins.

Lediglich die Tatsache, daß niedrige Katecholamindosierungen bei intravasaler und hohe Dosen bei extravasaler Applikation stärker gefäßtonisierend wirken, könnten ein Hinweis dafür sein, daß α -Rezeptoren auf dem Endothel vorhanden sind.

SUMMARY

The effect of O-(β -Hydroxyethyl)-rutosides on permeability and reactivity of blood vessels in vivo and in vitro

In order to achieve a protective edema effect by O-(β -Hydroxyethyl)-rutosides with oral application relatively high single dosages are necessary. In the experiment with cats a daily dose of 20 mg/kg, given for 4 days, was up till now the lowest dosage by which a protective edema effect could be obtained.

It was tested on the perfused hind legs of anaesthetized cats whether a protective edema effect can be obtained by lower oral dosages in case the O-(β -Hydroxyethyl)-rutosides are given for a longer period. For this purpose the cats were treated preliminarily for a period of 14 days with daily doses of 5 to 20 mg/kg.

Simultaneously, the vascular protective effect of the rutosides was tested by in vitro experiments on isolated arteria carotis of guinea pigs. For this purpose the vascular segments were fixed in an organic bath and perfused constantly to the current.

Whereas in the experiments with the cats the amount of protein and liquid which had penetrated into the surrounding tissue served as measure for the protective edema effect of the rutosides, in the in vitro experiments the reactivity of the carotis segments with respect to vascular active substances (catecholamines) was taken as an indicator for the extent of the vascular protection.

Both in the in vivo and in the in vitro experiments the inner coat of the vessels was damaged by a 0,025% polidocanol solution.

The mode of procedure in the in vitro experiments made it possible to investigate besides the vascular protective effect of the O-(β -Hydroxyethyl)-rutosides the influence of the catecholamines, the O-(β -Hydroxyethyl)-rutosides, the polidocanol and the α -blocker phentolamine on the reactivity of the carotis segments during intra- and extravascular applications of catecholamine and possibly to obtain from this indications concerning the distribution of α -receptors inside the vascular wall. Thereby special attention was directed to the existence of such α -receptors on the vascular endothelium.

In the edema experiments with the cats no edema protective effect could be achieved with the low daily HRutoside doses of 5 and 10 mg/kg. It is only with 20 mg/kg that the protective effect becomes statistically significant. However, with this dosage a preliminary treatment of 14 days does not result in essential advantages compared with one of 4 days.

This vascular protective effect could not be reproduced in the in vitro experiments on guinea pig arteria carotis.

The addition of O-(β -Hydroxyethyl)-rutosides, however, slightly increased the sensibility of undamaged vascular segments with respect to noradrenaline.

The existence of α -receptors on the vascular endothelium could not be proved definitely. The attempts to cover these hypothetical endothelium receptors with a protective film of HRutosides, to damage them by polidocanol or to block them by the α -blocker phentolamine did not lead to the intended result, i.e. to influence the reactivity of the carotis segments by this measure in such a way that the vasotonia is diminished during the intravascular application of noradrenaline to a greater extent than during extravascular addition of catecholamine.

Only the fact that low catecholamine dosages during intravascular and high dosages during extravascular application do have a stronger vasotonilizing effect could be an indication for the presence of α -receptors on the endothelium.

LITERATUR

- Abdel-Sayed W.A., Aboud F.M., Cavelo M.G.
Effect of local cooling on responsiveness of muscular and cutaneous arteries and veins
Am. J. Physiol. 219, 1772-1778, (1971)
- Ahlquist R.P.
A study of the adrenotropic receptors
Am. J. Physiol. 153, 586-600, (1948)
- Ambrose A.M., DeEds F.
Further Observations on the Effect of Rutin and Related Compounds on Cutaneous Capillaries
J. Pharmacol. exp. Ther. 97, 115-119, (1949)
- Appelgren L., Jacobsem S., Kjellmer J.
Estimation of protein concentration of the capillary filtrate by an isotope technique
Acta physiol. scand 66, 353-361, (1966)
Zit. nach: Benno Wagenbauer
Über die Wirkung von Thiopental und Carrageenin auf den transkapillären Flüssigkeitsaustausch in der hinteren Extremität der Katze
Dissertation, München (1979)
- Ariens E.I., Simonis A.M.
Physiological and Pharmacological Aspects of Adrenergic Receptor Classification
Biochem. Pharmacol. Vol. 32, No. 10, 1539-1545, (1983)
- Arnold A.
Sympathomimetic Amine Induced Responses to Effector Organs Subservd by Alpha-, Beta₁- and Beta₂-Adrenoceptors
In: Szekeres L.
Adrenergic Activators and Inhibitors, Part I.
Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 64-88, (1980)
- Bächmann A.
Der Einfluß von Venoruton^R auf die Blutviskosität und venöse Rückstromgeschwindigkeit im Bein- und Beckenbereich
In: Voelter W., Jung G. (Hrsg.)
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - neue Ergebnisse in Experiment und Klinik
Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 159-162 (1983)
- Balant L.P.
Klinische Pharmakologie von O-(β -Hydroxyethyl)-rutosiden
In: Voelter W., Jung G. (Hrsg.)
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - neue Ergebnisse in Experiment und Klinik
Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 31-45, (1983)

Balmer A., Limoni C.
Placebo-kontrollierter klinischer Doppelblindversuch mit
Venoruton[®] bei der Behandlung von Zeichen und Symptomen
der chronisch-venösen Insuffizienz (CVI)
In: Voelter W., Jung G. (Hrsg.)
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - neue Ergebnisse in Experiment und Klinik
Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 151-157 (1983)

Bargmann W.
Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, (1977)

Barrow A., Griffiths L.A.
Metabolism of the Hydroxyethylrutosides
Biliary and Urinary Excretion of 3'4'5'-[Hydroxyethyl-¹⁴C],
7-Tetra-O-(β -Hydroxyethyl)-rutosides in Rats and Monkeys
after Parenteral Administration
Xenobiotica 2, 575-586, (1972)

Barrow A., Griffiths L.A.
Metabolism of the Hydroxyethylrutosides
III. The Fate of Orally Administered Hydroxyethylrutosides
in Laboratory Animals
Metabolism by Rat Intestinal Microflora in Vitro
Xenobiotica 4, 743-754, (1974a)

Barrow A., Griffiths L.A.
Metabolism of the Hydroxyethylrutosides
II. Excretion and Metabolism of 3'4'7-Tri-O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside and Related Compounds in Laboratory Animals
After Parenteral Administration
Xenobiotica 4, 1-16, (1974b)

Beach V., Steinetz B.G.
Quantitative measurement of Evans blue space in the tissue
of the rat: Influence of 5-Hydroxytryptamine antagonists
and phenelzine on experimental inflammation
J. Pharmacol 131, 400-406, (1961)

Berridge M.J.
Receptors and calcium signalling
Trends in Pharmacol Sci. 1, 419-424, (1980)

Bevan J.A., Duckles S.P.
Evidence for α -adrenergic receptors on intimal endothelium
Blood Vessels 12, 307-310, (1975)

Bevan J.A., Su C.
Sympathetic mechanisms in blood vessels:
Nerve and muscle relationships
A. Rev. Pharmac. 13, 269-285, (1973)

- Böhm C.
Die Bedeutung der Veneninsuffizienz in der Praxis
In: Fischer H. (Hrsg.)
Chronische Veneninsuffizienz - Pathogenese und medikamentöse Therapie
F.K. Schattauer Verlag; Stuttgart, New York, 199-202, (1984)
- Bohr D.F., McIvor B.C., Rinehart I.F.
The Effects of Various Flavone Glucosides on the Rate of Passage of Evans Blue through the Damaged Capillary Wall
J. Pharmacol. exp. Ther. 97, 243-249, (1949)
- Bopp I.
Der Einfluß von Venoruton^R auf die Unterschenkelvolumina bei Normalpersonen und Kranken mit venösen Abflußstörungen
In: Voelter W., Jung G. (Hrsg.)
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - experimentelle und klinische Ergebnisse
Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 155-160, (1978)
- Burri P.H., Weibel E.R.
Beeinflussung einer spezifischen cytoplasmatischen Organelle von Endothelzellen durch Adrenalin
Z. Zellforsch. 88, 426-440, (1968)
Zit. nach: Osswald W., Guimaraes S.
Adrenergic Mechanisms in Blood Vessels
4. Adrenergic Mechanisms in the Endothelium
Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol., Vol. 96, 62-65, (1983)
- Caneghem P. van
Influence of some Hydrosoluble Substances with Vitamin P Activity on the Fragility of Lysosomes in Vitro
Biochem. Pharmacology 21, 1543-1548, (1972)
- Carlson E.C., Burrows M.E., Johnson P.C.
Electron Microscopic Studies of Cat Mesenteric Arterioles: A Structure-Function Analysis
Microvascular Res., Vol. 24, No. 2, 123-143, (1982)
- Casley-Smith J.R.
The Actions of the Benzo-Pyrones on the Blood-Tissue-Lymph-System
Folia Angiologica, 24, 7-22, (1976)
- Cauwenberger H. van
Double-Blind Study of the Efficacy of a Soluble Rutoside Derivate in the Treatment of Venous Disease
Arch. int. Pharmacodyn. 196, 122-125, (1972)
- Cauwenberger H. van, Franchimont P.
Action du Z. 6000 (Trihydroxyethylrutoside) sur Divers Tests d'inflammation Expérimentale chez le Rat
Arch. Int. Pharmacodyn.-Ther. 170, 74-80, (1967)

Clough G.

Der Einfluß verschiedener physiologischer Parameter auf den vesikulären Transport

In: Meßmer K., Hammersen F.

Struktur und Funktion endothelialer Zellen

S. Karger; Basel, München, Paris, London, New York, Tokio, Sydney, (1983)

Crimson I.M., Berez R.R., Madden I.D., Fuhrmann F.A.

Rutin and other Flavonoids as Potentiators of Terminal Vascular Responses to Epinephrin and as Antagonists of Vaso-depressor Materials

Amer. J. Physiol. 164, 391-399, (1951)

Docherty J.R., McGrath J.C.

A Comparison of Pre- and Post-Junctional Potencies of Several Alpha-Adrenoceptor Agonists in the Cardiovascular System and Anococcygeus Muscle of the Rat

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. 312, 107-116, (1980)

Drenckhahn D.

Zellmotilität und zytoplasmatische Filamentensysteme in Gefäßendothelien

In: Meßmer K., Hammersen F.

Struktur und Funktion endothelialer Zellen

S. Karger; Basel, München, Paris, London, New York, Tokio, Sydney, (1983)

Drew G.M., Whiting S.B.

Evidence for two distinct types of postsynaptic α -adrenoceptors in vascular smooth muscle in vivo

Br. J. Pharmacol. 67, 207-215, (1979)

Dustmann H.O., Godolias G., Enghofer E.

Pathogenese des venostatischen Ödems und seine Beeinflussung durch Diu Venostasin

In: Fischer H. (Hrsg.)

Chronische Veneninsuffizienz - Pathogenese und medikamentöse Therapie

F.K. Schattauer Verlag; Stuttgart, New York, 179-198, (1984)

Exton J.H.

Molecular mechanisms involved in α -adrenergic responses

Trends in Pharmacol Sci. 3, 111-115, (1982)

Felix W.

Frequenzmessung mit Thermistoren

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmacol. 246, 484-485, (1964)

Felix W.

Wirkungsmechanismus der internen Therapie mit "Venopharmaca"

Dt. med. Journ. 21, 456-465, (1970)

Felix W.

Zum Mechanismus der antiödematösen Wirkung von O-(β -Hydroxyethyl)-rutosiden

Dt. med. Journ. 23, 403-405, (1972)

Felix W.

Zur Wirkung von O-(β -Hydroxyethyl)-rutosiden auf die Ödembildung durch Ethoxysklerol und Thiopental am Hinterlauf der Katze

In: Voelter W., Jung G. (Hrsg.)

O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - experimentelle und klinische Ergebnisse

Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 93-102, (1978)

Felix W.

Zum Problem "Venennmittel"

Med. Welt 31, 813-816, (1980)

Felix W.

Pharmakologie

In: Rudolfsky G. (Hrsg.)

Zirkulation - Angewandte Angiologie

Pathophysiologie und Pharmakologie

Perimed Fachbuch-Verlagsgesellschaft mbH, Erlangen, 63-97, (1981)

Felix W., Nieberle J., Schmidt G.

Wirksamkeit von O-(β -Hydroxyethyl)-rutosiden bei peroraler Applikation und Unspezifität ihrer protektiven Wirkung

In: Voelter W., Jung G. (Hrsg.)

O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - neue Erkenntnisse in Experiment und Klinik

Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 65-74, (1983)

Felix W., Remien J., Hällfritsch K.

Zur Messung von Venenreaktionen im Tierversuch

Pflügers Arch. 329, 352-359, (1971)

Fischer H.

Sozioepidemiologische Studie über die Venenleiden bei einer erwachsenen Wohnbevölkerung in der Bundesrepublik Deutschland

In: Voelter W., Jung G. (Hrsg.)

O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - neue Erkenntnisse in Experiment und Klinik

Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 121-134, (1983)

Fischer H.

Sozioökonomische Bedeutung der Varikose

In: Fischer H. (Hrsg.)

Chronische Veneninsuffizienz - Pathogenese und medikamentöse Therapie

F.K. Schattauer Verlag; Stuttgart, New York, 1-8, (1984)

Flavahan N.A., Rimele T.I., Cooke J.P., Vanhoutte P.M.
Characterisation of Postjunctional Alpha-1 and Alpha-2
Adrenoceptors Activated by Exogenous or Nerve-Released
Norepinephrine in the Canine Saphenous Vein
J. Pharmacol. Exp. Ther. 230, 699-705, (1984)

Förster H.

Resorption und Stoffwechsel von Hydroxyethylrutosiden
In: Voelter W., Jung G. (Hrsg.)
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - experimentelle und klini-
sche Ergebnisse
Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 43-62,
(1978)

Fritz-Niggli H.

Rutoside und strahleninduzierte Tumorregression: Diffe-
renzierte Reaktionen maligner und gesunder Zellen
In: Voelter W., Jung G. (Hrsg.)
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - experimentelle und klini-
sche Ergebnisse
Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 169-180,
(1978)

Fritz-Niggli H.

Experimentelle Daten zur Wirkung von HR in der Radiopro-
tektion
In: Voelter W., Jung G. (Hrsg.)
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - neue Erkenntnisse in Expe-
riment und Klinik
Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 225-235,
(1983)

Fritz-Niggli H., Rao K.-H.

Rutosides and Radiation Induced Regression of Experimental
Tumors
Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 27, 1057-1064, (1977)

Frøkjær-Jensen J.

Das System der Membranvesikel des Kapillarendothels
In: Meßmer K., Hammersen F. (Hrsg.)
Struktur und Funktion endothelialer Zellen
S. Karger; Basel, München, Paris, London, New York, Tokio,
Sydney, (1983)

Furchgott, R.F.

The requirement for endothelial cells in the relaxation of
arteries by acetylcholine and some other vasodilators
Trends in Pharmacol Sci. 2, 173-176, (1981)

Gabbiani G., Majno G.

Fine Structure of Endothelium
In: Kaley G., Altura B. (Hrsg.)
Microcirculation, Volume I
University Park Press, Baltimore, London, Tokio, 133-144,
(1977)

Gabor M.
Pharmacologic Effects of Flavonoids on Blood Vessels
Angiologica 2, 355-374, (1972)

Gabor M., Gabor B.
Effekt von Rutosiden auf das Rattenpfoten-Ödem
In: Voelter W., Jung G. (Hrsg.)
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - experimentelle und klinische Ergebnisse
Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 73-78, (1978)

Gauer O.H.
Kreislauf des Blutes
In: Gauer O.H., Kramer K., Jung R. (Hrsg.)
Physiologie des Menschen, Bd. 3
Herz und Kreislauf
Urban & Schwarzenberg; München, Berlin, Wien, 81-268, (1972)

Gerlach E.
Die Beeinflussung des varikösen Symptomenkomplexes durch Venoruton injectabile^R und Kompression unter Berücksichtigung von Kapillarresistenz und Kapillarpermeabilität
Med. Mschr. 22, Heft 9, 414-421, (1968)

Gerold M., Haeusler G.
 α -Adrenoceptors in Rat Resistance Vessels
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 322, 29-33, (1983)

Gloor M., Rother H., Friedrich H.C.
Z. Hautkr. 49, 393, (1974)
Zit. nach: Gabor M., Gabor B.
Effekt von Rutosiden auf das Rattenpfoten-Ödem
In: Voelter W., Jung G. (Hrsg.)
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - experimentelle und klinische Ergebnisse
Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York; 73-78, (1978)

Glusa E., Markwardt F.
Characterisation of Postjunctional α -Adrenoceptors in Isolated Human Femoral Veins and Arteries
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 323, 101-105, (1983)

Golden G.
Eine Übersicht über neue pharmakologische Effekte und klinische Resultate von O-(β -Hydroxyethyl)-rutosiden
In: Voelter W., Jung G. (Hrsg.)
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - experimentelle und klinische Ergebnisse
Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 141-153, (1978)

Griffiths L.A., Barrow A.
The Fate of Orally and Parenterally Administered Flavonoids in the Mammal
Antilogica 2, 162-174, (1974)

Grobecker H., Hellmbrecht D., Palm D., Quiring K.
Pharmakotherapie der Hypertonie, der Hypotonie und der
chronischen Obstruktion der Atemwege
In: Forth W., Henschler D., Rummel W. (Hrsg.)
Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie
Bibliographisches Institut, Mannheim/Wien/Zürich, 99-131,
(1977)

Gugler R., Dengler H.R.
Inhibition of Human Liver Catechol-O-Methyltransferase
by Flavonoids
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 276, 223-233, (1973)

Guyton A.C., Granger H.J., Taylor A.E.
Interstitial Fluid Pressure
Physiol. Rev. 51, 527-563, (1971)

Hackett A.M., Griffiths L.A.
Enterohepatic cycling of O-(β -Hydroxyethyl)-rutosides and
their biliary metabolites in the rat
Experientia 33, 161-163, (1977a)

Hackett A.M., Griffiths L.A.
The Disposition and Metabolism of 3'4'7-Tri-O-(HR) and
7 Mono-HR in the Mouse
Xenobiotica 7, 641-651, (1977b)

Hackett A.M., Griffiths L.A., Luyckx A.S., Van Cauwenber-
ger H.
Metabolism of Hydroxyethylrutosides (HR)
Metabolism of [^{14}C] -HR in Man
Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 26, 925-928, (1976)

Hammersen F.
Zur Ultrastruktur experimenteller Ödeme und deren Beeinflus-
sung durch O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside
In: Voelter W., Jung G. (Hrsg.)
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - experimentelle und klinische
Ergebnisse
Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 103-120,
(1978)

Hammersen F., Hammersen E.
Zur Ultrastruktur des durch Etacrynsäure oder Polidocanol
hervorgerufenen Ödems und seine Beeinflussung durch O-(β -Hy-
droxyethyl)-rutoside
In: Voelter W., Jung G. (Hrsg.)
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - neue Erkenntnisse in Experi-
ment und Klinik
Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 75-92, (1983)

Hammersen F., Hammersen E., Osterkamp-Baust U.
Bau und Funktion endothelialer Zellen
In: Meßmer K., Hammersen F.
Struktur und Funktion endothelialer Zellen
S. Karger; Basel, München, Paris, London, New York, Tokio,
Sydney, (1983)

Harms J., Karcher K.-H., Kleinert H.
Über die Behandlung der Strahlenreaktion der Schleimhaut
Med. Welt 15, 1125-1129, (1964)

Hauck G., Schröer H.
Vitalmikroskopische Untersuchungen zur Lokalisation der
Eiweißpermeabilität an der Endstrombahn von Warmblütern
Pflügers Arch. 312, 32-44, (1969)

Heidenreich O., Fülgraff G.
Therapie bei Störungen des Wasser- und Elektrolythaushaltes;
Infusionstherapie
In: Forth W., Henschler D., Rummel W.
Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie
Bibliographisches Institut Mannheim/Wien/Zürich, 226-250,
(1977)

Hladovec J.
Vasotropic Drugs - a Survey Based on an Unifying Concept
of their Mechanism of Action
Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 27, 1073-1076, (1977)

Jung G., Ottnand M., Voelter W.
Quantitative Determination O-(β -Hydroxyethyl)-rutosides
in human blood after intravenous and oral administration
by circular dichroism
Europ. J. of Drug Metabolism and Pharmacokinetics 3, 131-
141, (1977)

Karnushina J.D., Spatz M., Bembry J.
Cerebral endothelial cell culture
I. The presence of beta₂- and alpha₂-adrenergic receptors
linked to adenylate cyclase activity
Life Sciences 30, 849-858, (1982)

Kiesewetter H., Radtke H., Jung F., Schneider R.
Rheologische Wirksamkeit von Venoruton[®] bei Ex-vivo-Gabe
zu pathologisch verändertem Blut
In: Voelter W., Jung G. (Hrsg.)
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - neue Erkenntnisse in Experiment
und Klinik
Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 47-53, (1983)

Klemm J.
Besitzt O-(β -Hydroxyethyl)-rutosid einen protektiven Effekt
im bestrahlten und unbestrahlten Gewebe?
Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 20, 817-821, (1970)

Klemm J.
Venoruton und periphere Durchblutung (tierexperimentell
und klinisch im rheologischen Bereich)
In: Voelter W., Jung G. (Hrsg.)
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - experimentelle und klinische
Ergebnisse
Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 191-197,
(1978)

Kroneberg G., Schlossmann K., Haberland G.
O-Methyltransferase-Hemmung in vitro und Adrenalin-Noradrenalin-Sensibilisierung in vivo
Arch. Pharm. Exp. Path. 241, 522, (1961)

Küster H.-H.
Offene Studie mit Venoruton^R-intens bei Patienten mit chronisch-venöser Insuffizienz
In: Voelter W., Jung G. (Hrsg.)
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - neue Erkenntnisse in Experiment und Klinik
Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 163-168, (1983)

Kurz H., Neumann H.-G., Forth W., Henschler D., Rummel W.
Allgemeine Pharmakologie
In: Forth W., Henschler D., Rummel W.
Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie
Bibliographisches Institut Mannheim/Wien/Zürich, 1-72, (1977)

Kuschinsky G., Lüllmann H.
Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1976

Landis E.M., Pappenheimer J.R.
Exchange of substances through the capillary walls
Handbook of Physiology, Sect. 2: Circulation II, 961, (1963)

Langner S.Z.
Presynaptic Regulation of Catecholamine Release
Biochem. Pharmacol. 23, 1793-1800, (1974)

Langner S.Z., Shepperson N.B.
Recent developments in vascular smooth muscle pharmacology: The post-synaptic α_2 -adrenoceptor
Trends in Pharmacol Sci. 3, 440-444, (1982)

Lecomte J., Van Cauwenberger H.
Sur quelques Propriétés Pharmacologiques du Mono (O. β . Hydroxyethyl) 7 Rutoside chez le Rat
Arch. int. Pharmacodyn. 208, 317-327, (1974)

Ljung B., Bevan J.A., Su C.
Evidence for uneven alpha-receptor distribution in the rat portal vein
Circ. Res. 32, 556-563, (1973)
Zit. nach: Patil P.N., Ruffolo R.R.Jr.
Evolution of Adrenergic Alpha- and Beta-Receptor Activators and Adrenergic Alpha- and Beta-Receptor Blocking Agents
In: Szekeres L.
Adrenergic Activators and Inhibitors, Part I
Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 89-134, (1980)

Lund F., Fagrell B., Kunichi J., Glenne P.O.
In: Rapport du III. Congrès International de Phlébologie
Amsterdam, 9.-13.9.1968
Appeldoorn: Stenvert & Zoon, 519-528, (1970)
Zit. nach: Gabor M., Gabor B.
Effekt von Rutosiden auf das Rattenpfoten-Ödem
In: Voelter W., Jung G. (Hrsg.)
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - experimentelle und klinische
Ergebnisse
Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 73-78, (1978)

Lutowski J., Szpunar K.
Bisheriger Stand der pharmakologischen Untersuchungen über
Bioflavonoide
Deutsche Apotheker-Zeitung 112, 553-559, (1972)

McGrath J.C.
Evidence for more than one type of post-junctional α -adrenoceptor
Biochem. Pharmacol Vol 31, No 4, 467-484, (1982)

McGrath J.C.
The variety of vascular α -adrenoceptors
Trends in Pharmacol Sci. 4, 14-18, (1983)

McGrath J.C., Flavahan N.A., McKean C.E.
J. Cardiovasc. Pharmacol. 4, 101-107, (1982)
In: McGrath J.C.
The variety of vascular α -adrenoceptors
Trends in Pharmacol Sci. 4, 14-18, (1983)

Medgett J.C., Langner S.Z.
Characterisation of Smooth Muscle α -Adrenoceptors and of
Responses to Electrical Stimulation in the Cat Isolated
Perfused Middle Cerebral Artery
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 323, 24-32, (1983)

Meel van C.A., De Jonge A., Kalkmann H.O., Wilffert B., Timmermanns P.B.M.W.M., Van Zwieten P.A.
Vascular smooth muscle contraction initiated by postsynaptic
 α_2 -adrenoceptor activation is induced by an influx of extracellular calcium
Europ. J. Pharm. 69, 205-208, (1981)

Mey De J., Vanhoutte P.M.
Effect of removal and substitution of potassium ions on the
adrenergic and cholinergic reactivity in canine femoral artery
Eur. J. Pharm. 67, 159-164, (1980a)

Mey De J., Vanhoutte P.M.
Interaction between Na^+ - K^+ -exchanges and the direct inhibitory effect of acetylcholin on canine femoral arteries
Circ. Res. 46, 826-836, (1980b)

Mey De J., Vanhoutte P.M.

Uneven distribution of postjunctional α_1 - and α_2 -like adrenoceptors in canine arterial and venous smooth muscle

Circ. Res. 48, 875-884, (1981)

Mey De J., Vanhoutte P.M.

Heterogenous behavior of the canine arterial and venous wall: Importance of the endothelium

Circ. Res. 51, 439-447, (1982)

Mey De J., Vanhoutte P.M.

Anoxia and endothelium-dependent reactivity of the canine femoral artery

J. Physiol. 335, 65-74, (1983)

Mikrovitsch V., Robinson J.W.L., Bel F., Gumma A.

Vergleichende Untersuchung am Hund zur Pharmakokinetik zweier Darreichungsformen mit der Wirksubstanz O-(β -Hydroxyethyl)-rutosidea

Arzneimittel-Forsch. (Drug Res.) 23, Nr. 7, 967-969, (1973)

Nickel R., Schummer A., Seiferle E.

Lehrbuch der Anatomie der Haustiere

Bd. 3, Kreislauf, Haut und Hautorgane

Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, (1976)

Nordmann H., Broillet A., Penocchio E., Ponard G.

Tierpharmakologische Untersuchungen zur Aktivität von HR im Hinblick auf die chronisch-venöse Insuffizienz

In: Voelter W., Jung G. (Hrsg.)

O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - experimentelle und klinische Ergebnisse

Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 79-92, (1978)

Osswald W., Guimaraes S.

Adrenergic Mechanisms in Blood Vessels

Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. 96, 53-122, (1983)

Pappenheimer J.R., Renkin E.M., Borrero L.M.

Filtration, Diffusion and Molecular Sieving Through Periph-
eral Capillary Membranes. A Contribution to the Pore Theo-
ty of Capillary Permeability

Amer. J. Physiol. 167, 13-46, (1951)

Pascual R., Bevan J.A.

Evidence that changes in vascular tone may be initiated from the intima of the rabbit aorta

In: Bevan J.A., Godfrain T., Maxwell R.A., Vanhoutte P.M. (Hrsg.)

Vascular neuroeffector mechanisms

Raven, New York, 300-304, (1980)

Patil P.N., Ruffolo R.R.Jr.

Evolution of Adrenergic Alpha- and Beta-Receptor Activators and Adrenergic Alpha- and Beta-Receptor Blocking Agents

In: Szekeres L.

Adrenergic Activators and Inhibitors, Part I

Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 89-134, (1980)

Pearson J.D.

Stoffwechselleistungen endothelialer Zellen

In: Meßmer K., Hammersen F. (Hrsg.)

Struktur und Funktion endothelialer Zellen

S. Karger; Basel, München, Paris, London, New York, Tokio, Sydney, (1983)

Phillips D.K.

Chemistry of Alpha- and Beta-Adrenoceptor Agonists and Antagonists

In: Szekeres L.

Adrenergic Activators and Inhibitors, Part I

Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 3-61, (1980)

Piller N.P.

Benzopyrone Treatment of Mild Thermal Oedema: Determination of the Most Effective Doses

Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 27, (I), Nr. 6, 1138-1141, (1977)

Prerovský J., Roztočil K., Hlavová A., Koleilat Z., Rážgová L., Oliva J.

The Effect of Hydroxyethylrutosides after Acute and Chronic Oral Administration in Patients with Venous Diseases

Angiologica 2, 408-414, (1972)

Pschyrembel W.

Klinisches Wörterbuch

Walter de Gruyter; Berlin, New York, 845, (1982)

Rand M.J., McCulloch M.W., Story D.F.

Carbacholamine Receptors on Nerve Terminals

In: Szekeres L.

Adrenergic Activators and Inhibitors, Part I

Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 223-266, (1980)

Rand M.J., McCulloch M.W., Story D.F.

Feedback modulation of noradrenergic transmission

Trends in Pharmacol Sci. 3, 8-11, (1982)

Rapoport R.M., Murad F.

Agonist-Induced Endothelium-Dependent Relaxation in the Rat Thoracic Aorta May be Mediated Through cGMP

Circ. Res. 52, 352-357, (1983)

Reinartz G., Wurst F.

Tierexperimentelle Untersuchungen zur Bestimmung von Wirkstoffkonzentrationen im Blut und Organen nach intraperitonealer Verabreichung von HR

Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 30, 657-659, (1980)

Remien J.

Aktive und passive Einflüsse vasoaktiver Pharmaka auf Venen und den transkapillären Flüssigkeitsaustausch

Habilitationsschrift, München, (1974)

Remien J., Felix W.

Über die Wirkung des Flavonoids Na-(+)-Epicatechin-2-sulfonat auf den Kreislauf in Ruhe und unter Belastung

Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 24, 19-22, (1974)

Renkin E.M.

Blood flow and transcapillary exchange in skeletal muscle

Federation Proc. 24, 1092-1094, (1965)

Rieger H.

Pathophysiologische Grundlagen der arteriellen Verschlusskrankheit

In: Rudolfsky G. (Hrsg.)

Zirkulation - Angewandte Angiologie

Pathophysiologie und Pharmakologie

Perimed Fachbuch-Verlagsgesellschaft mbH, Erlangen, 7-45, (1981)

Ring K., Valenteijn A., Haardt U., Henkel B., Hennings G., Wurm G.

Membranen als Zielsysteme von Flavonoiden: Der Einfluß von Quercetin und Quercetinderivaten auf die Permeabilität künstlicher Lecithinmembranen

In: Voelter W., Jung G. (Hrsg.)

O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - neue Erkenntnisse in Experiment und Klinik

Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 55-64, (1983)

Rázgová L., Roztočil K., Hlavová J., Fischer A.

The Effect of O-(β -Hydroxyethyl)-Rutosides (HR) on Peripheral Blood Vessels of the Lower Extremities in Idiopathic Oedema

Europ. J. clin. Pharmacol. 3, 247-251, (1971)

Robertson A.L., Rosen L.A.

The Arterial Endothelium: Characteristics and Function of the Endothelial Lining of Large Arteries

In: Kaley G., Altura B. (Hrsg.)

Microzirkulation, Volume I

University Park Press, Baltimore-London-Tokio, 145-165, (1977)

Roztočil K., Fischer A., Novák P., Rázgová L.

The Effect of O-(β -Hydroxyethyl)-Rutosides (HR) on the Peripheral Circulation in Patients with Chronic Venous Insufficiency

Europ. J. clin. Pharmacol. 3, 243-246, (1971)

Roztočil K., Prerovský J., Oliva J.
The Effect of Hydroxyethylrutosides on Capillary Filtration Rate in the Lower Limb of Man
Europ. J. clin. Pharmacol. 11, 435-438, (1977)

Rudolfsky G.
Pathophysiologie der Venen
In: Rudolfsky G. (Hrsg.)
Zirkulation - Angewandte Angiologie
Pathophysiologie und Pharmakologie
Perimed Fachbuch-Verlagsgesellschaft mbH, Erlangen, 47-62,
(1981)

Rüegg J.C.
Vascular smooth muscle: Intercellular aspects of adrenergic receptor contraction coupling
Experientia 38, 1400-1404, (1982)

Sandersleben von J.
Kreislaufstörungen
In: Frei W., Stunzi H., Weiss E.
Allgemeine Pathologie
Paul Parey Verlag, Berlin und Hamburg, 128-180, (1972)

Schauenberg P., Paris F.
Heilpflanzen
BLV Verlagsgesellschaft, München-Bern-Wien, 74-75, (1975)

Schmidt H.
Kurze Einführung in die Chemie der Flavonoide unter besonderer Berücksichtigung der O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside
In: Voelter W., Jung G. (Hrsg.)
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - experimentelle und klinische Ergebnisse
Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 1-9, (1978)

Schmidt-Schönbein H.
Die Erhaltung der Fließfähigkeit des Blutes durch O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside
In: Voelter W., Jung G. (Hrsg.)
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - experimentelle und klinische Ergebnisse
Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 129-139,
(1978)

Schmidt-Schönbein H., Volger E., Weiss J., Brandhuber M.
Effect of O-(β -Hydroxyethyl)-rutosides on the Microrheology of Human Blood under Defined Flow Conditions
Vasa 4, 263-270, (1975)

Schneider W.
Zur Geschichte der Venenpharmaka
In: Fischer H. (Hrsg.)
Chronische Veneninsuffizienz - Pathogenese und medikamentöse Therapie
F.K. Schattauer Verlag; Stuttgart, New York, 211-217, (1984)

Schümann H.-J., Lues J.

Postjunctional α -Adrenoceptors in the Isolated Saphenous Vein of the Rabbit

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 323, 328-334, (1983)

Shepperson N.B., Langner S.Z.

The Effects of the 2-aminotetrahydronaphthalene derivate M7, a selective α_2 -adrenoceptor agonist in vitro

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 318, 10-13, (1981)

Spörri H.

Blutkreislauf

In: Scheunert A., Trautmann A. (Hrsg.)

Lehrbuch der Veterinär-Physiologie

Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 467-591, (1976)

Spokas E., Folco G., Quilley J., Chander P., McGrift J.C.
Endothelium Mechanisms in the Vascular Action of Hydralazine

Hypertension 5, Suppl. I, I 107-I 111, (1983)

Starke K.

α -Adrenoceptor Subklassifikation

Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol, Vol. 88, 199-236, (1981)

Stumpe K.O., Krück F.

Ödempathogenese - Hämodynamische und humorale Faktoren

In: Brunner U., Kappert A., May R., Schoop W., Witzleb E. (Hrsg.)

Das dicke Bein - Grundlagen, Diagnostik, Therapie

Aktuelle Probleme in der Angiologie: 9

Verlag Hans Huber; Bern, Stuttgart, Wien, 32-46, (1970)

Thulesius O.

Pathophysiologie der venösen Insuffizienz

In: Fischer H. (Hrsg.)

Chronische Veneninsuffizienz - Pathogenese und medikamentöse Therapie

F.K. Schattauer Verlag; Stuttgart, New York, 9-13, (1984)

Vanhoutte P.M., Rimele T.J.

Role of the endothelium in the control of vascular muscle function

Journal de Physiologie, Vol. 78, No. 7, 681-686, (1982)

Voelter W., Jung G.

Vorwort

In: Voelter W., Jung G. (Hrsg.)

O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - neue Ergebnisse in Experiment und Klinik

Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, V-VI, (1983)

Voorde van de J., Bensen J.

Role of the endothelium in the vasodilator response of rat thoracic aorta to histamine

Europ. J. Pharmacol. 87, 113-120, (1983)

Wienert V.

Die Beinveneninsuffizienz

F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart-New York, (1984)

Wilson R.H., DeEds F.

The in vitro Protection of Epinephrin by Flavonoids

J. Pharmacol. exp. Ther. 95, 399-406, (1949)

Wollny C.

Dissertation, München 1971

Zit. nach: Klemm J.

Venoruton^R und periphere Durchblutung (tierexperimentell und klinisch im radiologischen Bereich)

In: Voelter W., Jung G. (Hrsg.)

O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - experimentelle und klinische Ergebnisse

Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 191-197, (1978)

Wurst F., Reinartz G., Kärcher K.-H.

Die strahlenschützende Wirkung von Venoruton^R, gemessen an Hydroxyprolin als biochemischer Parameter des radiogenen Effektes an der Bindegewebssubstanz, erste Mitteilung

In: Voelter W., Jung G. (Hrsg.)

O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - experimentelle und klinische Ergebnisse

Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 181-189, (1978)

Herrn Professor Dr. W. Felix danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und für die jederzeit gewährte Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. A. Petter danke ich für die Durchsicht der Arbeit und die wohlwollende Beratung.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Frau Dr. E. Schneider, Frau Steigerwald und Frau Schubert, die mir bei der Durchführung aller praktischen Arbeiten stets ihre volle Unterstützung gewährten.

Bei Frl. Andrea Schmidt bedanke ich mich besonders für die kollegiale Zusammenarbeit während der Durchführung der Experimente.

Für ihre Hilfe bei den Schreibarbeiten danke ich meiner Frau.

LEBENS LAUF

Geboren: am 23. November 1955 in Ansbach

Eltern: Vermessungsbeamter Walter Grimm
Hausfrau Elise Grimm, geb. Schürlein

Schul Ausbildung: 1962 - 1967 Volksschule Ansbach
1967 - 1976 Platen-Gymnasium Ansbach
Juni 1976 Abitur

Wehrdienst: Juli 1976 - September 1977
Panzerbataillon 303 in Heidenheim

Studium: WS 1977/78 - WS 1982/83 Studium der
Tiermedizin an der LMU München
Staatsexamen Januar 1983

Approbation: Februar 1983

